

Aus dem Institut für Landwirtschaftliche Mikrobiologie
der Justus Liebig-Universität Gießen
Direktor: Professor Dr. E. Küster

Beiträge zum mikrobiellen Abbau von Kunststoffen

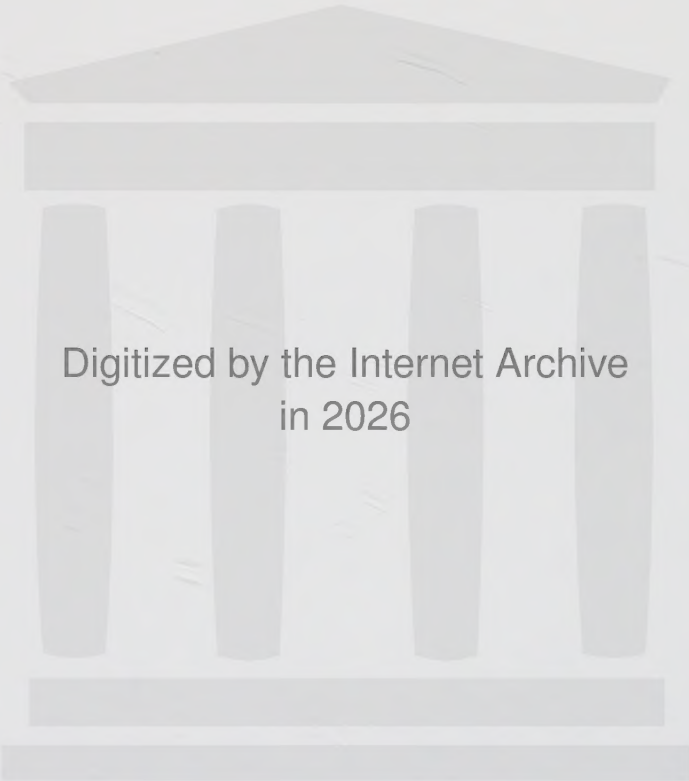
DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
bei dem Fachbereich Umweltsicherung
der Justus Liebig-Universität Gießen

eingereicht von

Dipl. Ing. agr. Ataollah Azadi-Bakhsh
geb. in Teheran

Gießen 1972



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Landwirtschaftliche Mikrobiologie
der Justus Liebig-Universität Gießen
Direktor: Professor Dr. E. Küster

Beiträge zum mikrobiellen Abbau von Kunststoffen

DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
bei dem Fachbereich Umweltsicherung
der Justus Liebig-Universität Gießen

eingereicht von

Dipl. Ing. agr. Ataollah Azadi-Bakhsh
geb. in Teheran

Gießen 1972



Dekan: Professor Dr. E. Küster
1. Berichterstatter: Professor Dr. E. Küster
2. Berichterstatter: Professor Dr. H. Linser
Tag der mündlichen Prüfung:

Inhaltsverzeichnis

Seite

I.	<u>Einleitung</u>	1
II.	<u>Material und Methodik</u>	16
A.	Versuche in Petrischalen	16
1.	Versuchsmaterial	16
2.	Nährböden	17
3.	Impfmateriel	18
4.	Versuchsanordnung	20
B.	Manometrische Versuche nach Warburg	22
1.	Beschreibung der Gefäße und Meßvorgang	23
2.	Versuchsmaterialien, und deren Herstellung für die Warburg - Atmungsversuche	24
3.	Nährlösung	25
4.	Versuche zur Isolierung von Mikroorganismen	26
a)	Mietenversuch mit Müll	26
b)	Freilandversuch mit Boden	29
c)	Gefäßversuch mit Torf	30
d)	Prinzip der Folienbehandlung und Isolierung von Mikroorganismen von Folien, die den Einflüssen von Müll, Boden und Torf ausgesetzt waren	30
e)	Impfmateriel für Warburg - Atmungsversuche	32
5.	Versuchsanordnung bei den manometrischen Versuchen	34
III.	<u>Ergebnisse</u>	36
A.	Ergebnisse der Versuche in Petrischalen	36
B.	Mikrobiellbedingte Veränderungen an den in Müll, Boden und Torf gelagerten Folien	50

	Seite
C. Pilz- und Bakterien-Isolierungen von Kunststofffolien, die in Müll, Boden und Torf eingegraben waren	52
D. Ergebnisse der Atmungsversuche nach Warburg	56
IV. <u>Diskussion</u>	70
V. <u>Zusammenfassung</u>	82
VI. <u>Literaturverzeichnis</u>	85

I. Einleitung

Alle makromolekularen Substanzen, die ganz oder teilweise durch Synthese erhalten werden, bezeichnet man als Kunststoffe. Das Molekulargewicht makromolekularer Verbindungen muß den Wert 1000 überschreiten. Bei diesen hochmolekularen Verbindungen unterscheidet man die Gruppe der unregelmäßig aufgebauten Naturstoffe, zu denen vor allem die verschiedenen Kohlearten gehören, und der synthetischen Stoffe, in deren Molekülen sich gewisse Strukturprinzipien regelmäßig wiederholen.

Alle Kunststoffe werden, je nach Festigkeit und Elastizität unter bestimmten Temperaturbedingungen in drei Hauptgruppen, die Duroplaste, Thermoplaste und Elastoplaste eingeteilt. Zuerst waren nur die Kunststoffe aus weiterverarbeiteten Naturstoffen bekannt, z.B. Cellulose-, Eiweiß-, Naturkautschuk-kunststoffe ebenso wie Kunststoffe aus Ölen und Naturharzen. Die heute verwendeten Kunststoffe sind jedoch überwiegend vollsynthetisch aus Elementen C, H, O, Cl, N aufgebaut. Man kennt die Polymerisations-, die Polykondensations-, die Polyadditions-kunststoffe und die Silicone. Zu den Polymerisationskunststoffen zählt man die synthetischen Kautschuke, Polyäthylen, Polystyrol, Polyvinylchlorid, Polyvinylpropionat, Polytetrafluoräthylen, die Polyacryle und Polyacrylnitril. Phenolharze und Phenoplaste, Aminoplaste, Polyester, Polyamide und Polycarbonate gehören zu der Gruppe der Polykondensationskunststoffe, während man die Polyurethane zu den Polyadditionskunststoffen rechnet.

Den eigentlichen hochmolekularen Grundsubstanzen der Kunststoffe sind niedermolekulare Anteile zugesetzt, wie Monomere und Oligomere, Fabrikations- und Verarbeitungshilfsmittel und Zusätze zur Erzielung besonderer Eigenschaften wie z.B. Weichmacher und Farbstoffe. Weichmacher sind meist farblose oder wenig gefärbte Flüssigkeiten von öligler Konsistenz, die den Kunststoffen Flexibilität verleihen.

Fischer (zit. n. Kelker et. al. (1961)) versuchte als erster die Totalsynthese großer Moleküle und es gelang ihm, bis zu 18 einfache Aminosäuren über Amidgruppen ($-\text{CO} - \text{NH} -$) zu verknüpfen. Staudinger (zit. n. Kelker et. al. (1961))

setzt diese Forschungen mit der Untersuchung einfacher Syntheseprodukte fort. Er fand z.B., daß die Polyoxymethylene durch Zusammenschluß vieler Formaldehydmoleküle (HCHO) entstehen. Ihre allgemeine Formel lautet: $(\text{HOC} - \text{CH}_2\text{O})_x - \text{H}$, wobei x -, eine beliebige Zahl, den Polymerisationsgrad darstellt. Solche Stoffe mit großem 'x' nannte Staudinger makromolekulare Substanzen, und er bemühte sich als erster um die Molgewichtsbestimmung und die Abgrenzung des Gebiets. Die Grenze gegen die niedermolekularen Stoffe läßt sich durch die Forderung ziehen, daß sich die physikalischen Eigenschaften einer makromolekularen Substanz bei einer Erhöhung des Polymerisationsgrades um eins nicht mehr merklich ändern sollen. Ein Beispiel soll das erläutern:

Methan CH_4 und Äthan C_2H_6 zeigen recht verschiedene Schmelzpunkte, da sich ihre Molgewichte wie 16 : 30 verhalten. Vergleicht man dagegen ein Paraffin mit einer Kette aus 1000 Methylengruppen und ein solches mit 1001 Methylengruppen, dann beträgt der Unterschied nur noch rund 0,1 %. Entsprechend klein ist auch der Unterschied der Schmelzpunkte.

Zu den rein organischen Produkten treten heute in zunehmendem Maße makromolekulare Substanzen, die in ihrem Molekül typisch anorganische Bausteine enthalten, wie z.B. die - Si - O - Gruppe in den Silikonen, - Cl - in PVC und andere mehr (Kelker et al. (1961) und Stoekhert (1967)).

In unserer heutigen Welt erlangen Kunststoffe ständig eine stärkere Bedeutung als Ersatzstoffe für Papier, Glas oder Holz und zum anderen für Verpackungen jeglicher Art.

Umweltforscher sind in zunehmendem Maße besorgt über die wachsende Bedrohung durch Plastikabfälle; ihre Beseitigung ohne Gefährdung des öffentlichen Wohls und der Gesundheit gehört zu den dringendsten Problemen der Wohlstandsländer. Dreiviertel aller Kunststoffabfälle stammen aus Verpackungsmaterialien, so daß sie nach Schönborn (1970) im Jahre 1966 ein Gesamtvolumen von $200\,000\text{ m}^3$ im Müll eingenommen haben und bis 1975 mit einem Zuwachs von 150 % gerechnet werden muß, d.h. auf $500\,000\text{ m}^3$ angewachsen sind.

In einem Bericht des Batelle Institutes (1970) ist die folgen-

de Tabelle abgedruckt, die nicht ganz mit den Angaben des "Verbandes Kunststofferzeugende Industrie" (1971) übereinstimmt. In Tabelle 1 werden die Zahlen über Produktion und Verbrauch der Kunststoffe vom Batelle Institut und VKE dargestellt.

Tab. 1	Batelle Institut		VKE	
	1968	1980	1970	1980
Kunststofferzeugnisse (Produktion) Mio. t	1,55	3,2		
Kunststoffverpackungs- mittel (Verbrauch) t	328868	795500		
Anteil der Kunststoff- verpackungsmittel an den Gesamtkunststoff- erzeugnissen %	21	25		
Müllanfall pro Jahr Mio. t	18	23,5		
Müllanfall pro Kopf und Jahr kg	300	365	230- 370	400- 600
Kunststoffabfälle pro Jahr Mio. t	0,45	1,0	0,52	
Anteil der Kunst- stoffabfälle am Ge- samtmüll %	2,5	4,3	2-4	5-6
PVC - Erzeugnisse (Produktion) t	550000	1250000		
PVC - Verpackungen (Verbrauch) t	15000	120000		
Anteil der PVC - Ver- packungen an den PVC- Erzeugnissen %	2,7	9,6		
Anteil der PVC- Ver- packungen an den Kunststoffverpa- ckungen %	4,6	15,0		
PVC - Abfälle t	45000	233000		
Anteile der PVC - Abfälle am Gesamt- müll %	0,25	1,0	0,4-0,7	0,7-0,9

VKE - Verband Kunststofferzeugende Industrie

Auf Grund dieser Tabelle wird die Menge der Kunststoffabfälle zwischen 1968 und 1980 um 122 % steigen, wegen der gleichzeitig steigenden Gesamtmenge des Mülls führt das jedoch nicht zu einer Verdoppelung des Anteils der Kunststoffe im Müll. Das Batelle Institut behauptet ferner, daß im städtischen, gewerblichen und nicht produktionsbedingten industriellen Abfall die Verpackungsmittel etwa 75 % des Kunststoffabfalls ausmachen. Für die Zusammensetzung der Kunststoffe im Müll nach Kunststoffarten ergibt sich etwa folgende geschätzte Verteilung:

Polyolefine	ca. 90 % = 414 000 t
PVC und andere Kunststoffe	ca. 10 % = 46 000 t

Der Anteil von PVC - Produkten im Gesamtmüll beträgt demnach weniger als 0,3 Gewichts - % (Batelle Institut).

In einer anderen Berechnung nach Erbel und Kaupert (1965) wird der prozentuale Gewichtsanteil der Kunststoffe am Gesamtmüll auf 1,1 % für 1972 geschätzt, während das Batelle Institut schon für 1968 die Zahl 2,5 % angibt und der Verband Kunststoffherzeugende Industrie für 1970 3 %.

Nach einem Bericht von Wogrolly (1971) ist der Anteil der Verpackungsmittel aus Kunststoff von 1958 - 1963 um 550 % gestiegen und der Anteil der Kunststoffverpackungen von 1954 - 1962 um 3780 %, d.h. von 3150 t auf 119 000 t pro Jahr.

Für Großbritannien gibt Staudinger (1970) folgende Zahlen an:

Kunststoffanteil am Gesamtmüll 1969 1,6 %

Kunststoffanteil am Gesamtmüll 1980 4,5 - 6 %

Gesamtabfallpotential der Kunststoffe 1980 1,1 - 1,4 Mio. t, d.h. 18,8 - 24,0 kg / Einwohner / Jahr.

Diese Abfälle werden folgende Zusammensetzung haben:

Polyolefine	51 - 53 %
Polystyrole	15 - 16 %
PVC	16 - 18 %
Verschiedene	bis zu 5 %
Thermodore	bis zu 10 %

Im Vergleich dazu: Gesamtabfallpotential der BRD: 1968 1,0 Mio t (Batelle Institut)

Auch von Japan, einem ausgesprochenen Plastikland, ist eine Zahl bekannt. So produziert die Region Osaka monatlich

330 000 t Industriemüll, darunter große Anteile von nicht brennbaren Materialien und von Plastikabfällen. Rothenhäusler (1971). Erst in den letzten Jahren begann der Kunststoffmüll zu einem Problem zu werden, da in immer größerem Umfang Kunststoffmaterialien anstelle der herkömmlichen Verpackungen (Glas, Papier, etc.) verwendet werden. Unter den Kunststofffertigzeugnissen, deren Produktionsmenge insgesamt zwischen 1963 und 1968 einen Zuwachs von 173 % verzeichnete, erreichten die Verpackungsmittel, Lager- und Transportbehälter einen überdurchschnittlichen Zuwachs von 251 %.

Wenn sich die bisherige Entwicklung fortsetzt, sind von den 908 300 t Produktionsmenge für Fertigzeugnisse aus Kunststoff im Jahre 1980 691 400 t, d.h. mehr als 2/3 Verpackungsmittel, davon werden Verpackungsmittel aus PVC schätzungsweise 90 300 t einnehmen. Batelle Institut (1970).

Die Zahlen, die Staudinger für Großbritannien angibt, sind sogar noch größer als die für die BRD geschätzten: Produktionsmenge von Verpackungsmaterial 1980 zwischen 750 000 - 910 000 t. Er nimmt an, daß ca. 90 % der gesamten Kunststoffverpackungsmaterialien als Abfall eingesammelt werden und ungefähr 15 % aller Kunststoffartikel außerhalb des Verpackungssektors binnen kurzer Zeit zu Abfall werden. Diese Zahlen können durchaus Realität werden, wenn man bedenkt, daß Experimente durchgeführt werden, um die bisher üblichen Bierglasflaschen durch PVC zu ersetzen.

So berichtet Katzenstein (1971), daß der Ausstoß von Flaschenbier aus sämtlichen Brauereien der BRD 1970 ca. 13 Milliarden Flaschen betrug. Bei der Verwendung von Einwegflaschen erhebt sich nun sofort die Frage ihrer Beseitigung.

Um abschätzen zu können, welches der verschiedenen Beseitigungsverfahren (Deponie, Kompostierung, Verbrennung) am besten zur Beseitigung der Kunststoffmassen geeignet ist, muß man die chemische Zusammensetzung, die physikalischen Eigenschaften, Dichte und spezifische Eigenschaften der einzelnen Kunststoffe kennen.

Zur Zeit sieht es leider noch so aus, wie der Verband Kunststoffherzeugende Industrie behauptet, daß 63 % unseres Mülls

ungeordnet abgekippt werden. Nur 20 % des Mülls kommen nach ihren Schätzungen in Verbrennungsanlagen, nur 15 % auf geordnete Deponien und gerade 2 % in Kompostierungsanlagen. Die billigste Methode der Abfallbeseitigung, die geordnete Deponie, d.h. hygienische Landauffüllung, kann nur solange erfolgreich angewandt werden, solange genügend Vertiefungen, alte Steinbrüche, Bergwerke und dergleichen zur Verfügung stehen. Dabei muß man die Möglichkeit einer Verseuchung der Luft und des Wassers durch Zersetzungsprodukte des Mülls beachten. Wogrolly (1970) meint, daß Kunststoffe auf Grund ihrer chemischen und mikrobiellen Beständigkeit bei der Deponie nicht zur Umweltverunreinigung beitragen, während Staudinger (1970) gerade in der Resistenz der Kunststoffe eine Gefahr bei der Deponie sieht, da z.B. eine durchgehende Schicht von Kunststofffolien die Entwässerung der Deponie stark beeinträchtigen und das Land für schwere Bodenbelastungen unbrauchbar machen würde. Da jedoch, wie Staudinger feststellt, ein Haushalt von drei Personen 1980 jede Woche 0,8 - 1,1 kg an Kunststoffabfällen produzieren wird, die ein Lagervolumen von 34 - 48 Liter benötigen, wird wahrscheinlich sowieso nicht genügend Land für die Deponie zur Verfügung stehen. Das Problem der Kunststoffabfälle scheint also hauptsächlich ein Volumenproblem zu sein, da sich Verpackungsabfälle aus Kunststoff nicht wie solche aus Papier schon im Haushalt manuell oder mechanisch zerkleinern lassen. Von den traditionellen Beseitigungsmethoden scheint Verbrennen die einzige zu sein, die eine sofortige Wirkung auf Plastikmaterialien zeigt. Für den Laien ist die Verbrennung deshalb so attraktiv, weil innerhalb weniger Minuten ein Abfallstoß zu einem Haufen Asche reduziert werden kann. Doch neben dem Vorteil der schnellen Volumenverkleinerung und der Wärmerückgewinnung stellt die Emission schädlicher Gase und anderer leichtflüchtiger Verbindungen, die die Luft verschmutzen und die Korrosion fördern, einen Hauptnachteil der Abfallbeseitigung durch Verbrennung dar, z.B. HCL aus PVC, Stickstoffoxyd aus Aminokunststoffen und Nylon, Phenole aus Phenol- und Formaldehydharzen, Benzol, Benzaldehyd und Ruß aus Polystyrol, SO_2 aus Thiocol-Harzen. Bei der Verbrennung einer

Tonne PVC werden 550 kg Chlorwasserstoff abgegeben, Eichler (1970), d.h. allein in Hamburgs Müllverbrennungsanlagen werden jährlich 7000 t HCl frei, bei einem Anteil von 12 000 t PVC am Hausmüll. Onasch (1971). Die Konzentration von HCl ist zwar in der Luft sehr niedrig, kann jedoch nach Teller und Böhne (1970) schon beträchtliche Pflanzenschäden verursachen, je nach Stärke der Einwirkungen als Wuchsdepressionen der gesamten Pflanze oder als Aufhellungen, Bleichungen und Verbrennungen der Blätter. Wird der Chlorwasserstoff vom Regenwasser aufgenommen, können Korrosionen an Gebäuden, Fabrikanlagen, Autos und anderen entstehen. Korrosionsschäden an den Kesseln der Müllverbrennungsanlagen werden sowieso nicht zu verhüten sein, Eichler und Onasch.

Bei der Pyrolyse, die man zu den Verbrennungsmethoden rechnen kann, wird der Müll durch indirekte Heizung bis zu etwa 1000°C in einer Retorte zersetzt. Die Pyrolyse dient der Energierückgewinnung; es wird brennbares Gas produziert, das zur Elektrizitätserzeugung genutzt werden kann.

Wogrolly (1970) sieht den Kunststoffgehalt im Müll wegen des größeren Heizwertes bei der Pyrolyse ohne Einschränkung als Vorteil an, während Staudinger (1970) auf die Gefahr des PVC aufmerksam macht, wenn HCl nicht im statu nascendi durch Zugabe nichtflüchtiger alkalischer Stoffe gebunden und als fester Reststoff weggeschafft werden kann.

Der Verband Kunststofferzeugende Industrie nimmt eine wesentlich optimistischere Haltung zur Frage der Schadstoffemissionen ein und weist auf Messungen des Bundesgesundheitsamtes in Berlin hin, nach denen sogar in unmittelbarer Nähe der Müllverbrennungsanlage eine von dieser Quelle ausgehende Luftverunreinigung durch Salzsäure nicht nachweisbar war. Auch die zulässigen Emissionswerte liegen nach Ansicht des VKE im ungefährlichen Bereich, und man kommt erst dann in ihre Nähe, wenn der PVC-Anteil im Verbrennungsmüll um das acht bis zehnfache steigen sollte.

Als dritte Beseitigungsmöglichkeit bietet sich die Kompostierung an. Kunststoffe, insbesondere Folien, lassen sich sehr schlecht zerkleinern, auch können bei Verwendung kunststoff-

reichen Komposts lokale Verdichtungen im Boden auftreten. Staudinger (1970) ist der Ansicht, daß die Zunahme von Kunststoffen im Müll bei der Kompostierung zu finanziellen Schwierigkeiten führt, denn die Vorbehandlung von Rohmüll und die Nachbehandlung des kompostierten Mülls benötigen höhere Kapitalinvestitionen; gleichzeitig - als Folge der veränderten Zusammensetzung - kann weniger Kompost gewonnen werden und die Gewinnmöglichkeiten werden geringer.

Wogrolly (1970) beurteilt die Kompostierung der Kunststoffabfälle optimistischer. Er glaubt nicht, daß die Kunststoffe irgendwelche Schwierigkeiten beim Kompostieren verursachen, sondern daß ihre auflockernde Wirkung von Vorteil ist. Eine mikrobielle Zersetzung hält er nicht für sinnvoll, da gerade die Kunststoffe mit der Absicht hergestellt werden, gegen mikrobielle Korrosion beständig zu sein.

Wie man sieht, kann sich die Müllbeseitigung und vor allem die Beseitigung des Kunststoffmülls in den nächsten Jahren zu einem Problem größeren Ausmaßes entwickeln, wenn nicht Maßnahmen getroffen werden und vor allem die nötigen finanziellen Mittel bereitgestellt werden, um diesem Problem zu begegnen. Eine Möglichkeit könnte z.B. in der Entwicklung neuer Abfallbeseitigungsmethoden liegen, eine andere in der Erfindung schnell zerfallender Kunststoffe.

Onasch (1971) berichtet, daß in einigen Jahren jede Hausfrau einen Abfallbehälter haben werde, der den Kunststoffmüll durch schnelle Erhitzung, möglicherweise durch Laserstrahlen, zu einem Klumpen zusammenschmelzen werde, der nur einem Zweihundertstel der ursprünglichen Raumausdehnung entspräche. Eine weniger utopisch anmutende und auch nicht so kostspielige Möglichkeit ist die Entwicklung eines neuen Kunststoffes, der unter Einwirkung von Licht, Sauerstoff und mikrobiologischen Einflüssen schnell zerfällt. Tetra Pak/Lund (1970).

Eine andere Methode der Abfallbeseitigung, die man bisher für nicht oder nur in beschränktem Maße auf Kunststoffe anwendbar glaubte, ist die Zersetzung der Kunststoffe durch Mikroorganismen.

Heute ist man allgemein der Ansicht, daß Mikroorganismen in

der Lage sind, makromolekulare synthetische Substanzen auf enzymatischem Wege abzubauen. Unter enzymatischem Abbau versteht man die Verwendung von Kunststoffen als Kohlenstoffquelle für Mikroorganismen. Schwartz (1963) weist bereits kurz auf diese Möglichkeit hin, während Demmer (1968), Klausmeier (1966) und Haldenwanger (1970) diesen Vorgang ausdrücklicher beschreiben. Demmer vertritt die Ansicht, daß Organismen in die Lage versetzt werden können, auch solche organischen Moleküle anzugreifen, die ihnen gewöhnlich nicht als Energiequelle dienen. Entscheidend ist seiner Ansicht nach die Züchtung von Mikroorganismen, die entsprechende Enzyme für den Abbau makromolekularer Substanzen besitzen oder zu bilden vermögen.

Hier setzen Klausmeiers Versuche ein, der Mineralsalz - Weichmacher - Nährböden mit verschiedenen organischen Zusätzen veränderte und so eine Vielfalt von Mikroorganismen erhielt, die für den jeweiligen Zusatz spezifisch waren. Nach Demmer müssen die Makromoleküle den Enzymen Angriffspunkte bieten, denn, erst wenn das Enzym mit dem Substrat eine vorübergehende Bindung eingeht, können die enzymatischen Reaktionen im gewünschten Sinn ablaufen. Diese zweite Voraussetzung bietet die größte Schwierigkeit beim Abbau der Kunststoffe, da die Enzyme auf Grund der sehr dichten Packung der Polymermoleküle keine Angriffsmöglichkeit haben. Demmer demonstriert diese Hauptschwierigkeit an einem Beispiel: Nimmt man einen Abbau vom Ende her an, so beträgt bei einem Molekulargewicht von 100 000 die Endgruppenkonzentration etwa 0,01 - 0,02 % und diese Endgruppen sind mehr oder weniger im Polymerknäuel versteckt. Die Grundlage aller Versuche müßte sich also auf die Anreicherung, Züchtung und Isolierung von Mikroorganismen konzentrieren, die in der Lage sind, makromolekulare Substanzen abzubauen.

Neben Boden, Müll, Klärschlamm, Abwässern, Luft usw. gehören auch Kunststoffe zu den natürlichen Standorten solcher Organismen. Diese tragen sogenannte Eigenkeime mit sich, die noch aus der Fabrikation stammen.

In der Literatur sind zahlreiche Versuche beschrieben, in denen sowohl mit Bakterien als auch mit Pilzen gearbeitet wird

bei gleichzeitiger Variation der Kulturbedingungen, Art und Menge der Nährsubstrate, der Beimpfungsweise und dergleichen. Die Reihenversuche von Schwartz (1963) laufen über eine zu lange Versuchszeit von 120 - 150 Tagen. Bei diesen Versuchen ist die Menge der Nährlösung (nach Bushnell und Haas) und die Form der Versuchsgefäße von Bedeutung. Die Auswertung erfolgt in qualitativer und quantitativer Hinsicht, d.h. es werden makroskopisch sichtbare Veränderungen erfaßt und die Keimzahlen bestimmt. Da Schwartz mit dieser Methode etwa 500 Substanzen geprüft hat, würde es zu weit führen, die Ergebnisse im Einzelnen darzustellen. Man kann zusammenfassend sagen, daß in ihren Versuchen reine Polymerisate mit genügend hohem Molekulargewicht sich im großen und ganzen als resistent erweisen, während niedrig molekulare Zusatzstoffe im allgemeinen mehr oder weniger stark angegriffen wurden.

Eine andere Möglichkeit der Versuchsanordnung bieten die Adaptionversuche, die Schwartz lediglich an Polycaprolactam durchführte und dort einen Keimzahlenanstieg beobachten konnte.

Unter Adaption versteht man die Fähigkeit von Lebewesen, in diesem Fall Mikroorganismen, sich an die Stoffe ihrer Umgebung anzupassen. Man erkennt die Adaption daran, daß sich Keime, denen außer den erforderlichen Mineralsalzen als einzige Kohlenstoffquelle eine Substanz angeboten wird, die sie normalerweise nicht abzubauen vermögen, nach einer längeren Zeit der Stagnation zu vermehren beginnen. Bei den Versuchen, die Schwartz (1963) durchgeführt hat, sind lediglich Mikroorganismen verwendet worden, die vorher eine Adaption erfahren hatten. Burgess und Darby (1964) entwickelten ein Verfahren - die Gewichtsverlustmethode -, das sich sowohl auf die Testung mit Bakterien als auch mit Pilzen anwenden läßt und auf dem unterschiedlichen Gewicht der Kunststoffolien vor und nach der Zersetzung durch Mikroorganismen basiert. Die von ihnen getesteten Kunststoffolien werden von Mikroorganismen angegriffen. Bei Anwendung der Gewichtsverlustmethode, die noch durch die Methoden Druck bei 33 % Verlängerung, Druck bei Bruch und Änderung der Clark Biegsamkeit ergänzt wurde, kamen Wendt et al. (1970) zu dem Ergebnis, daß im Boden vergrabene Weich - PVC

Folie gegen Pilze nicht resistent ist.

Booth et al. (1968) untersuchten dasselbe Material nach der Agarplattenmethode mit 62 Bakterienkulturen und kamen zu dem gleichen Ergebnis. Bei der Plattenmethode wird der zu untersuchende Stoff auf einem Nährboden mit Bakterienkulturen ausgesetzt und eine zeitlang - hier 2 bis 3 Wochen - bei 30°C bebrütet. Bei Arten der Gattung *Pseudomonas* und *Brevibacterium* war der höchste Gewichtsverlust des Weich-PVCs zu beobachten, und zwar bis zu 20 %.

Die Suspensionsmethode mit Pilzen wurde von Demmer (1968) beschrieben und auch von Berk et al. (1957) bei der Untersuchung von Weichmachern verwendet. Sie beruht darauf, daß in Nährbouillon Verdünnungsreihen der zu prüfenden Substanzen in Reagenzgläsern oder auf Platten angelegt werden und diese mit einer Bakteriensuspension versetzt werden. In passenden Zeitabständen wird eine Öse aus den Röhrchen der Verdünnungsreihen in andere Röhrchen mit Nährbouillon übertragen, die den zu prüfenden Stoff nicht enthalten. Berk et al. (1957) fanden die Phosphorsäureester resistent, während unter den Adipinsäureestern sowohl angreifbare als auch beständige Verbindungen waren. Sie sehen ebenso wie Schwartz (1963) einen Zusammenhang zwischen Molekulargewicht und Verwertbarkeit der Verbindungen. Bei den niedrig molekularen Substanzen bedingt steigendes Molekulargewicht eine zunehmende Verwertbarkeit, wohingegen bei den hochpolymeren Substanzen, wie Jen-Hao et al. (1961/62) feststellten, die Angriffe der Mikroorganismen um so stärker sind je niedriger das mittlere Molekulargewicht ist.

Demmer (1968) untersucht die Verwertbarkeit von Weichmachern und Stabilisatoren durch Pilze, indem er entweder den Koloniedurchmesser oder das Myzeltrockengewicht der Pilze bestimmte. Bei beiden Versuchsanordnungen zeigten Phtalsäure und Phosphorsäureester keine Pilzentwicklung, ebenso verhielt sich Dioctyladipat, ein Adipinsäureester. Die beiden anderen Adipinsäureester dagegen waren angreifbar. Die Stabilisatoren wurden bevorzugt dann angegriffen, wenn im Molekül Doppelbindungen oder Epoxygruppen vorhanden waren. Nicht abbaubar sind

nach Demmer flüssige Blei-, Zink- und Bariumcadmiumstabilisatoren, sowie Triarylphenylphosphit.

Wie schon erwähnt, ist auch die Art des Nährbodens von großer Wichtigkeit. So kann man differenzieren in Nährböden mit und ohne assimilierbaren Kohlenstoff. Demmer z.B. führte seine Versuche mit sämtlichen Materialien nach beiden Methoden durch und verwendete die Testpilze Nigrospora sphaerica, Phoma susica, Fusarium culmorum. Die Versuchsdauer bei Nährböden mit assimilierbarer C-Quelle, - hier Malzagar -, betrug 6 Wochen. Die Ergebnisse waren bei beiden Methoden die gleichen, nur bei den Polyamiden unterschieden sie sich. Wurde der Test mit einem Nährboden ohne assimilierbare C-Quelle durchgeführt, erwies sich das Material als resistent, während es auf Malzagar einen Bewuchs und sogar eine Verfärbung und Aufrauung erkennen ließ, für die der Pilz Nigrospora sphaerica verantwortlich war. Bei Weich-PVC ließ sich eine Abnahme der Plastizität feststellen, der Bewuchs auf Polyäthylen war durch Abwischen zu entfernen, Polystyrol erwies sich ebenso wie PVC-Hart als resistent. Toepfer et al. (1970) waren die einzigen, die bei ihrem Verfahren der Acridinorange-Fluorochromierung Erosionserscheinungen an reinen Hochpolymeren wie Polyamid und Polystyrol feststellen konnten. Sie gaben jedoch zu, daß dieser mikrobielle Angriff möglicherweise nur auf die physikalische und mechanische Beschädigung der Oberfläche der hochpolymeren Substanzen zurückzuführen sei, was auch von Schwartz (1963) bestätigt wird.

Bei seinen Freilandversuchen gelangte Demmer (1968) ebenfalls zu der Ansicht, daß hochpolymere Substanzen mikrobiellen Einwirkungen gegenüber resistent sind. Polyäthylen und Polystyrol wurden zwar von Algen bzw. von Bakterien bewachsen, der Bewuchs ließ sich jedoch durch eine gründliche Reinigung entfernen, und es waren keine Korrosionserscheinungen festzustellen. Im Gegensatz zu den Laborversuchen werden bei den Freiland- und Expositionsversuchen die Prüfobjekte natürlichen Bedingungen wie Abwässern, Schlamm, Müll und verschiedenen Erden ausgesetzt. Ein Nachteil dieser Feldversuche ist nach Demmer ihre lange Versuchsdauer. Bei Demmer betrug die Expo-

sitionsdauer 9 Monate.

Krannich (1968) beschreibt eine Methode zur Prüfung der Vermehrungsfähigkeit von Bakterien unter Bodeneinfluß bei Verwendung von Zellophanfolie. Dabei wird sterilisierte Zellophanfolie über ein mit Erde gefülltes Becherglas gespannt, Bakterien auf die Folienoberfläche geimpft und in einer feuchten Kammer bebrütet. Es bilden sich Bakterienkolonien, was auf eine Zersetzung der Folie schließen läßt.

Ähnliche Versuche führte Griffiths (1971) mit Pilzen durch. Er verwendete sterilisierte Cellulose Xanthat Folie, die er auf zuckerhaltigen Nährboden gab. Konidiosporen von Verticillium dahliae wurden auf die Oberfläche des Zellophans gegeben und bei 22,5°C bebrütet. 18 Stunden nach dem Beimpfen waren 95 % der Sporen auf der Oberfläche des Häutchens gekeimt, und während der nächsten 24 Stunden bildeten sie ein beträchtliches Myzelgewebe. Nach einer ausgedehnten Besiedlung und Auflösung der Folie degenerierten die Hyphen oder es wurden Mikrosklerotien ausgebildet.

Bei den Pilzversuchen von Schwartz (1963), Kühlwein und Demmer (1967), Demmer (1968), Evans und Levisohn (1968), Klausmeier (1966) kommt es neben der Versuchsanordnung vor allem auf die Auswahl der Teststämme an. Die CEI (Commission Electrotechnique International) Nr. 68 aus dem Jahre 1954 enthält z.B. folgende Teststämme: Chaetomium globosum, Stachybotrys atra, Asp. niger, Asp. amstelodami, Paecilomyces varioti, Pen. cyclopium und Pen. brevi-compaktum. Schwartz hielt sich an diese Vorschrift, sie tauschte lediglich Asp. amstelodami, Pen. cyclopium und Pen. brevi-compaktum gegen andere in Schadensfällen und Exponierungsversuchen häufiger vorkommende Stämme aus: Asp. flavus, Asp. fumigatus, Pen. rubrum, Pen. funiculosus, Pen. citrinus, Alternaria tenuis, Trichoderma lignorum, Pen. cyaneum.

Kühlwein und Demmer beschreiben zur Bestimmung der Beständigkeit von Kunststoffen ein Verfahren, das sie ASTM D nennen und bei dem die Minderungen der mechanischen, optischen und elektrischen Eigenschaften von Halbfertig- und Fertigerzeugnissen ermittelt werden. Die Prüforganismen sind: Asp. flavus,

Asp. niger, Asp. versicolor, Pen. funiculosus, Pullularia pullulans, Trichoderma sp.

In den Versuchen dagegen, die Demmer (1968) allein durchführte, verwendete er folgende Teststämme: Nigrospora sphaerica, Phoma sueica, Pen funiculosus, Asp. niger, Fusarium culmorum. Evans und Levisohn (1968) beschränkten sich dagegen auf einen einzigen Teststamm, nämlich Stemphylium, und kamen in ihrer Untersuchung mit Polyurethanen zu dem Ergebnis, daß dieser Kunststoff gegenüber Stemphylium nicht resistent ist. Einen Pilz aus der Gruppe der Fusarien fand Klausmeier (1966), der die Phtalsäureester Diacetylphthalat und Butyl - iso - decylphthalat zu verwerten mochte.

Eine vollkommen andere als die bisher besprochenen Methoden stellen der BOD - Test und die Stoffwechselversuche dar. Katz und Fassbender (1966) untersuchten Ureaformaldehyde und verwandte Verbindungen auf ihre biologische Zersetzbarkeit nach einer Methode, die auf dem BOD - Test (= biological oxygen demand) basiert. Indem man den Stickstoffgehalt zum begrenzenden Faktor des Wachstumsmittels macht, gestattet die Beziehung zwischen Trübung und Stickstoffgehalt die Gradmessung der Zersetzung der makromolekularen Substanz. Nach Messung des Warburg-Atmungsapparates, die in vorliegender Arbeit noch näher erläutert werden wird, wurden Ureaformaldehyde bis zu einem Ausmaß von 50 - 60 % biologisch angegriffen. Die Trennung der nicht zersetzten Rückstände und das Wiederbebrüten unter denselben Testbedingungen zeigten keinen Bewuchs. Gasuntersuchungen dagegen zeigten an, daß Bestandteile mit höherem Molekulargewicht etwas zersetzt wurden, jedoch so langsam, daß ein Wachstum der Organismen nicht bestätigt werden konnte. Die Respirationsmethode von Burgess und Darby (1964) und die von Schwartz (1963) angewendete manometrische Methode nach Warburg basieren alle auf dem gleichen Prinzip: Die Zersetzung eines Materials wird durch Bestimmen des von den Bakterien oder Pilzen verbrauchten Sauerstoffs ermittelt. Der Vorteil dieser Versuchsmethode ist vor allem in der relativ kurzen Versuchsdauer und den sehr genauen Versuchsergebnissen begründet. Burgess und Darby gebrauchten folgende Pilze als

Prüforganismen: Asp. flavus, Cladosporium herbarum, Pen. funiculosus, Pullularia pullulans und Trichoderma viride, während Schwartz (1963) die manometrischen Versuche mit Bakterien durchführte und die Testkeime auf Pseudomonas aeruginosa Stämme beschränkte. Die Ergebnisse unterschieden sich nicht von denen, die mit anderen Testmethoden und den gleichen Bakterien- bzw. Pilzstämmen erhalten wurden.

II. Material und Methodik

A. Versuche in Petrischalen

Versuche in Petrischalen sind eine Methode zur Prüfung der Zersetzbarkeit von Kunststoffen unter Einwirkung von Mikroorganismen, bei der als Versuchsgefäße Petrischalen verwendet werden. Diese Methode verlangt eine lange Inkubationszeit (150 Tage und mehr). Die den mikrobiellen Angriffen ausgesetzten Kunststoffmaterialien werden optisch (makroskopisch und mikroskopisch) und durch andere physikalische Methoden wie Bestimmung der Zugkraft, Biegsamkeit usw. oder durch Messung des Gewichtsverlustes beurteilt. Die Auswertung der Versuche erfordert große Genauigkeit und Erfahrung, denn mikrobielle Vorgänge auf so stabilen makromolekularen Substanzen mit meist sehr glatter und fester Oberfläche haben ein oft verschiedenartiges Ausgangsbild, das zu Verwechslungen führen kann. Die Versuche in Petrischalen, die am Anfang der Arbeit durchgeführt worden sind, sollen als Vorversuche gelten, denn obwohl in manchen Fällen die Ergebnisse positiv waren, scheint diese Methode wegen zu langer Versuchszeit und schwieriger Beurteilung der Ergebnisse nicht die beste Methode zur Prüfung der Zersetzbarkeit der Kunststoffe durch Mikroorganismen zu sein.

1. Versuchsmaterial

Hierfür standen eine dunkelgraue PVC - Hart Platte ca. 2 mm dick und eine weiße, wenig durchsichtige Sisdamidplatte ca. 1 mm dick zur Verfügung.

Die PVC - Hart Platte hatte eine glatte, harte Oberfläche, die stellenweise gelbe, rote und weißleuchtende makroskopisch unsichtbare Flecken auswies. Außerdem fand man noch winzig kleine, runde blasenähnliche Stellen, wobei die Haut an der Platte an diesen Stellen etwas gewölbt und rauher erschien. Die Oberfläche der Sisdamidplatte war dagegen völlig glatt und weicher als die der PVC - Hart Platte. Sie wies sonst unter der Lupe keine zusätzlichen Merkmale auf.

Die Platten wurden in Streifen von 10 x 2 cm geschnitten, vor dem Gebrauch mit 10 %igem Formalin behandelt, bei 50°C in sterilen Petrischalen getrocknet, mit doppeltdestilliertem, sterilem, warmen Wasser gespült und nochmals getrocknet.

2. Nährböden

Als Nährböden für die Versuche in Petrischalen wurde die Nährlösung nach Bushnell und Haas (Schwartz 1963) ohne eine C - Quelle gewählt.

Die Minerallösung nach Bushnell und Haas hat folgende Zusammensetzung:

MgSO ₄	0,02 %	NH ₄ NO ₃	0,1 %
KH ₂ PO ₄	0,1 %	CaCl ₂	0,002 %
K ₂ HPO ₄	0,1 %	FeCl ₃	2 Tropfen einer gesättigten wässrigen Lösung auf 1000 ml Nährlösung

1000 ml doppeltdestilliertes Wasser.

PH - Wert der Nährlösung: 6,5

Für die Versuche in Petrischalen wurden feste und flüssige Nährböden genommen. Zur Festigung der Nährlösung wurden 1,5 % Pulveragar zu der Minerallösung gegeben. Um eine Aktivierung der Mikroorganismen zu Beginn der Versuche zu gewährleisten, wurde den festen und den flüssigen Nährböden Glukose in verschiedenen Mengen zugegeben. Die Glukosekonzentrationen betrugen 0,1 %, 0,25 %, 0,5 % und 1 %. Neben diesen Glukosenährböden wurden auch welche ohne Glukose verwendet.

Die Nährböden wurden an drei hintereinander folgenden Tagen je dreiviertel Stunden lang im Dampftopf sterilisiert. Die für die Isolierung und Züchtung von Mikroorganismen verwendeten Nährböden:

Malzbouillon: Biomalz 20 ml, Leitungswasser 1000 ml

Malzagar : Malzbouillon 1000 ml, Agar 20 g

Fleisch-Hefeextrakt-Bouillon: Natriumphosphat 2 g, Natriumchlorid 3 g, Pepton-Witte 5 g, Liebig's-Fleischextrakt 10 g, Hefeextrakt 1 g, Leitungswasser 1000 ml

Fleisch-Hefeextrakt-Agar: Fl.-Hef.-Bouillon 1000 ml, Agar 20 g

3. Impfmaterial

Als Impfmaterial wurde Bacillus cereus var. mycoides (A₇) und Nigrospora sphaerica (A₈) in Form von Reinkulturen verwendet. Die beiden Stämme werden in der Literatur als kunststoffangreifende Mikroorganismen angegeben.

Weiterhin wurden als Mischkulturen die Pilze und Bakterien genommen, die sich auf einem Plastikschauch (Material nicht genau feststellbar, entweder Polyäthylen oder Polypropylen) an einer Wasserleitung angesiedelt und einen relativ dicken schwarzgrünen Belag über den ganzen Schlauch gebildet hatten. Aus diesem Schlauch wurde dann später der Pilz Phialophora sp. isoliert, der eine starke Lochbildung in dem Material hervorgerufen hatte. (Abb. 1 - 4)

Die Mischkulturen wurden auf folgende Weise isoliert und gezüchtet:

Von dem Plastikschauch wurden 4 x 0,5 cm große Streifen geschnitten und unter starkem Wasserstrahl mit einem sterilen Pinsel so weit gewaschen, daß der schwarze Belag entfernt war. Auf dem gründlich gesäuberten Streifen konnte man schwarze Punkte wahrnehmen, die unter dem Mikroskop als kleine Löcher sichtbar waren. Die Löcher kamen durch das Wachstum des Pilzes Phialophora sp. zustande. Das Schlauchmaterial wies zusätzlich feine dunkle Kratzer auf.

Die gründlich gesäuberten Streifen wurden in doppeltem Ansatz auf Malz- (A₁) und Fleischagar (A₂) gelegt. Nun wurden vier andere Streifen wiederum unter starkem Wasserstrahl soweit gereinigt, daß der größte Teil des Belages entfernt war und nur noch ein dünner Film auf dem Kunststoff vorhanden war. Die vier halbgereinigten Streifen wurden wiederum in doppeltem Ansatz auf Malz- (A₃) und Fleischagar (A₄) gelegt.

Um alle Pilze und Bakterien zu erfassen, die sich auf dem Schlauch angesiedelt hatten, wurden vier Streifen ungereinigt auf Malz- (A₅) und Fleischagar (A₆) gelegt. Die Schalen wurden 48 Stunden lang bei 25°C bebrütet und die daraus isolierten

Mikroorganismen als Reinkulturen auf Schrägagar aufbewahrt. Folgende Mikroorganismen wurden von dem Plastikschlauch isoliert:



Abb. 1: (10 x)



Abb. 2: (45 x)

Bild 1 und 2 zeigen das Wachstum von Phialophora sp. - Kolonien in dem Kunststoffmaterial. Entlang des Pilzkynels sind fettartige Substanzen ausgeschieden worden, die als kugelige Gebilde erscheinen. (siehe auch Bild 3 und 4)

- A₁ = Phialophora sp. und Aspergillus flavus (Asp. flavus ist in der Literatur als aggressiver Pilz angegeben worden).
- A₃ = Phialophora sp., Aspergillus flavus und Aspergillus niger (Asp. niger in der Literatur ebenfalls als Kunststoffangreifer angegeben).
- A₅ = Phialophora sp., Aspergillus flavus, Aspergillus niger und Penicillium sp. (viele Penicilliumarten werden als aggressiv geschildert).

Die Mehrzahl aller isolierten Bakterien war grampositiv, außerdem waren etwa 10 % Kurzstäbchen.

Reagensröhrchen mit 5 ml Minerallösung und 0,1 % Glukose wurden mit einer Mischkultur der gleichen Zusammensetzung beimpft, in der sie isoliert worden war, z.B. A₁ = Phialophora sp. und Aspergillus flavus.

Die Röhrchen wurden 48 Stunden lang bei 25°C bebrütet und ein Röhrchen diente je einer Petrischale als Impfmateriäl.

Reinkulturen aus der Stammsammlung des Institutes von Bacillus cereus var. mycoides (A₇) und Nigrospora sphaerica (A₈) wurden zum Vergleich ebenfalls in Röhrchen mit 5 ml Minerallösung + 0,1 % Glukose geimpft und je ein Röhrchen als Impfmateriäl für eine Schale verwendet.

4. Versuchsanordnung

In große, sterile Petrischalen (13 cm Durchmesser) wurden 50 ml Nährlösung gegeben. In diese Schalen wurden V - förmige sterile Glasbügel eingelegt, um die Plastikstreifen fast an der Oberfläche der Flüssigkeit zu halten und auf diese Weise einen guten Sauerstoffaustausch über die Streifen zu ermöglichen. In den Petrischalen mit festen Nährböden (50 ml pro Schale) wurden die Streifen leicht in deren Oberfläche gedrückt. Jede Versuchsreihe mit einer Rein- oder Mischkultur wurde in doppeltem Ansatz angelegt und enthielt Schalen mit festen und flüssigen Nährmedien, ohne Glukose und mit Glukose. Die Glukosekonzentrationen betrugen 0,1 %, 0,25 %, 0,5 % und 1 %. Um eine eventuell auftretende Änderung des Versuchsmaterials durch die Minerallösung, Oxidation oder auch durch Ei-

genkeime - falls vorhanden - zu erfassen, wurden für jede Versuchsreihe zwei unbeimpfte Kontrollschalen ohne Glukose angelegt.

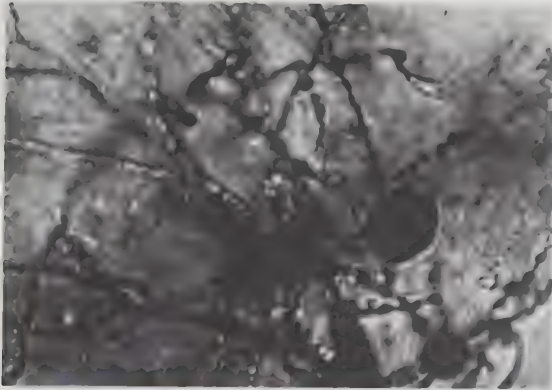


Abb. 3: (100 x)

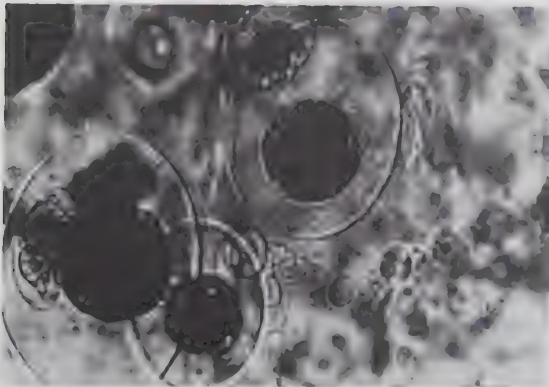


Abb. 4: (100 x)

Bild 3 und 4 zeigen die deutliche Kanalbildung durch Phialophora sp. in dem Material. Die Ausscheidung oliger Substanz um die Mycelien ist klar zu erkennen. Es ist anzunehmen, daß durch Ausscheidung der fettähnlichen Substanz das Material aufgelöst und verwertet worden ist.

Nun wurde jede Petrischale mit dem Inhalt eines Röhrchens beimpft, das vorher als Impfmateriel vorbereitet worden war. Die Schalen wurden vier Monate bei 25°C bebrütet.

B. Manometrische Versuche nach Warburg

Das Prinzip der Atmungsversuche nach Warburg beruht darauf, daß Gasdruckänderungen, die proportional der Atmung und somit einer biologischen Abbauintensität während eines Versuchsauflaufes sind, in einem geschlossenen System bei konstanter Temperatur gemessen werden.

Die Manometrie nach Warburg ist seit langer Zeit in verschiedenen wissenschaftlichen Untersuchungsgebieten unterschiedlicher Art angewandt worden und hat mit erstaunlicher Genauigkeit zu guten Ergebnissen geführt, die auf den exakt auszuführenden Messungen beruhen. Ritzerfeld (1963) berichtet über die manometrische Atemmessung in der medizinischen Mikrobiologie.

Drobnik (1957, 1958, 1960 a,b) hat weitgehende Untersuchungen bei der Bodenatmung durchgeführt.

Umbreit et al. (1964) spricht über die Einsatzmöglichkeiten der manometrischen Methoden bei den Stoffwechseluntersuchungen in dem Gewebe. Über die Bestimmung der mikrobiellen Aktivität in Müll und Müllkomposten durch die Messung der Sauerstoffaufnahme und Wärmebildung berichtet Niese (1969).

Schwartz (1963), Burgess und Darby (1964) und das Institut für Hygienisch-Bakteriologische Arbeitsverfahren München berichten über einige respiratorische Versuche bei der Zersetzung hochpolymerer Substanzen durch Mikroorganismen.

Untersuchungen dieser Art sind deshalb von Interesse, weil man bei biologisch sehr stabilen Substanzen die Versuchsdauer auf ca. 12 Stunden reduzieren kann. Darüber hinaus kann man durch Wahl geeigneter Gefäße, Nährböden, Temperaturen usw. auch die geringsten mikrobiellen Angriffe an hochpolymeren Substanzen erkennbar machen.

Zunächst wurden einige Vorversuche mit dem Ultrarotabsorptionschreiber (URAS) durchgeführt, der die CO₂- Abgabe, die durch

die Atmung der Mikroorganismen entsteht, mißt. Diese Methode hat sich nicht bewährt, da es sich hier um ein offenes System handelte, das jedem Gefäß in einem Zeitraum von 36 Min. nur ca. 45 Sec. lang die Möglichkeit der CO_2 -Messung gab. In der restlichen Zeit hatten die Gefäße mit dem Meßteil des Apparates keine Verbindung. Wie erwartet, waren die CO_2 -Konzentrationen wegen der schweren Zersetzbarkeit der Kunststoffe so gering, daß eine Messung des veratmeten CO_2 innerhalb einer so kurzen Zeit in einem offenen System nicht möglich war. Mit besserem Erfolg wurde die respiratorische Methode nach Warburg zur Messung der Sauerstoffaufnahme angewandt, die sich bis zum Ende der Untersuchungen gut bewährte.

1. Beschreibung der Gefäße und Meßvorgang

Zur Verfügung stand ein Warburggerät Typ F 26 (Firma Braun Melsungen), das mit einem Longator zur automatischen Aufzeichnung der Meßwerte verbunden war und dessen Meßbereich 300 mm betrug. Als Sperrflüssigkeit wurde Lithiumnitrat genommen. Mittels eines an das Registriergerät angeschlossenen Thermo-
barometers wurden Temperatur und Luftdruckänderungen automatisch ausgeglichen.

Die von dem Schreiber durchgehend registrierten Kurven entsprachen den Druckänderungen in mm Lithiumnitrat, aus denen nach der Multiplikation mit der Gefäßkonstanten KO_2 der von 3 ml Keimsuspension (Impfmaterial) + 50 mg zu untersuchendes Kunststoffpulver verbrauchte Sauerstoff in $\mu\text{l} = \text{mm}^3$ errechnet wurde.

Die Gefäßkonstante (KO_2) wurde nach einer Formel berechnet, die von Webley (1947) angegeben und von Niese in seinen Untersuchungen verwendet wurde:

$$\text{KO}_2 = \frac{(V - (V_s + V_f)) \frac{273}{T} + V_f}{P_0} \propto \text{O}_2$$

Es bedeuten:

V = gesamtes Systemvolumen bis O-Marke des Manometers

Vs= Materialvolumen

Vf= Volumen der Gesamtflüssigkeit in dem Reaktionsgefäß

PO= Normaldruck der Sperrflüssigkeit

α_{O_2} * Bunsen'scher Adsorptionskoeffizient für Sauerstoff

T = absolute Temperatur

Als Reaktionsgefäß wurden kegelförmige Gefäße mit exzentrisch am Boden fixierten Einsatzgefäßen zur Aufnahme der Kalilsäure mit einem Gesamtvolumen von ca. 22 ml (B. Braun Melsungen) gewählt.

2. Versuchsmaterialien, und deren Herstellung für die Warburg- Atmungsversuche

Alle Versuchsmaterialien wurden von den Farbwerken Höchst Frankfurt/M. zur Verfügung gestellt. Sie bestanden aus 6 verschiedenen, dünnen, klaren Folien, die als Verpackungsmaterial Verwendung finden und den dazu gehörenden 6 Grundsubstanzen (Rohstoffe), ohne jede Fremdschubstanz wie Weichmacher oder Stabilisatoren usw.

I. Folien

- 1) Suprathen NR 50: Reduzierte spezifische η (RSV - Wert) = 0,95 dl/g. Molgewicht ca. 100 000. Dichte = 0,918 g/cm³. Kristallit - Schmelzpunkt 108°C.
- 2) Hostaphan R 75: RSV - Wert = 0,78 dl/g. Molgewicht ca. 20 000. Dichte = 1,334 g/cm³. Kristallit - Schmelzpunkt 128°C.
- 3) Trespaphan NN 20: RSV - Wert = 3,1 dl/g. Molgewicht ca. 400 000. Dichte = 0,905 g/cm³. Kristallit - Schmelzpunkt 165°C.
- 4) Genotherm: K - Wert = 60,5. Massepolymerisat mit poröser Kornstruktur. Dichte = 1,38 g/cm³.
- 5) Acetatfolie N 50: Dichte = 1,3 g/cm³. Vicat - Temperatur = 70°C.
- 6) Cellophan : Für diese Folie lassen sich keine Kenndaten angeben.

II. Grundsubstanzen (Rohstoffe)

- 1) Hochdruckpolyäthylen (zu der Folie NR 50 gehörende Grundsubstanzen)
- 2) Polyterephthalsäureester (zu der Folie R 75 gehörende Grundsubstanzen)
- 3) Polypropylen (zu der Folie NN 20 gehörende Grundsubstanzen)
- 4) Polyvinylchlorid hart porös (zu der Genotherm Folie gehörende Grundsubstanzen)
- 5) Celluloseacetat (zu der Acetatfolie N 50 gehörende Grundsubstanzen)
- 6) Für Cellophanfolie gibt es keinen Rohstoff.

Alle diese Proben (Grundsubstanzen) standen in Granulat bzw. in Plättchenform zur Verfügung, nur eine PVC-Grundsubstanzen lag in Pulverform vor.

Für die Atmungsversuche wurden die Substanzen fein zermahlen, um den Mikroorganismen eine möglichst große Angriffsfläche zu bieten. Vor dem Mahlen auf Siebweite 1 mm wurden die Proben mit flüssigem Stickstoff (- 198°C) abgekühlt.

Um eine eventuelle Oxidation der pulvrigen Substanzen während der Aufbewahrungszeit zu vermeiden, wurden die Proben in Reagensgläsern mit Gummistopfen verschlossen unter Stickstoff aufbewahrt.

Vor der Verwendung wurden den Pulvern 10%iges Formalin zugesetzt, sie wurden bei 50°C getrocknet, mit doppeldestilliertem, sterilem Wasser gespült und wieder getrocknet.

3. Nährlösung

Für die respiratorischen Versuche nach Warburg wurde folgende Nährlösung nach Demmer (1968) verwendet:

NH_4NO_3	1 g
KH_2PO_4	1 g
K_2HPO_4	1 g
$\text{Mg SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,5 g
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,8mg
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1mg

$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0,5mg

$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0,4mg

doppeltdestilliertes Wasser 1000 ml

Glukose 0,0005 % = 50 mg/l Minerallösung

Die Nährlösung wurde an drei hintereinander folgenden Tagen je dreiviertel Stunden im Dampftopf sterilisiert.

Die geringe Menge Glukose ist als sogenannter Starter gedacht. Es wurden keine Adaptionsversuche durchgeführt. Die Spuren von Glukose sollten den Mikroorganismen während des Versuches die Gelegenheit geben, sich an das neue Milieu zu gewöhnen und ihnen eventuell eine Anfangsaktivität gewährleisten. Die Menge der Glukose wurde bei den Atmungsversuchen von anfänglich 250 mg Glukose/l Minerallösung schließlich bis auf eine Endkonzentration von 50 mg Glukose/l Minerallösung erniedrigt.

Als Versuchsorganismus diente Pseudomonas aeruginosa zur Bestimmung der Höhe der Atmungskurve in ca. 30 Stunden Versuchsdauer und der völligen Verwertung von Glukose bei Keimzahlen zwischen 10^7 - 10^9 .

Es war anzunehmen, daß die Glukose spätestens in den ersten 5 - 10 Stunden wegen der hohen Keimzahl vollkommen verwertet werden würde. Deshalb wurde die Versuchszeit je nach Verlauf der Atmungskurve, die man vom Schreiber ablesen konnte, zwischen 15 und 30 Stunden gewählt.

4. Versuche zur Isolierung von Mikroorganismen

a) Mietenversuch mit Müll

Ort des Versuches war die Müllanlage der Stadt Heidelberg zwischen Heidelberg und Schwetzingen. Die 5 m lange, 1,5 m breite und 1,2 m hohe Miete bestand aus fein abgeseibtem Rohmüll der Stadt Heidelberg (sogenanntes Raspelgut). Der Rohmüll war mit Klärschlamm gemischt im Verhältnis von 5 : 1. In dem Material hatte vor dem Versuch keine Verrottung stattgefunden. Die Miete wurde am 30. April angesetzt. Von jeder der sechs verschiedenen Folienarten wurden fünf Proben von der Größe 40 x 40 cm zugeschnitten, mit Stecknadeln um einen

U - förmigen Drahtbügel gespannt und befestigt. Um einen Gasaustausch innerhalb der Miete zu ermöglichen, wurden die Folien an mehreren Stellen durchlöchert. Die Folien sollten in der Miete verschiedenen Bedingungen ausgesetzt werden, um eventuell Mikroorganismenstämme zu erfassen, die für eine bestimmte Stelle innerhalb der Miete charakteristisch sind.

Die 30 Proben (je 5 Proben von jeder der 6 Folienarten) wurden in drei Schichten in die Miete eingelegt, wobei jede Schicht und Stellung von jeder Folienart eine Probe enthielt. Die Folienanordnung in der Miete war wie folgt: (Abb. 6)

- 1) In 10 cm Höhe über der Bodenoberfläche wurden 6 Proben über die gesamte Fläche der Miete verteilt.
- 2) In 60 cm Höhe über der Bodenoberfläche wurden 18 Proben folgendermaßen verteilt: 6 Proben in der Mitte, 6 Proben 15 cm vom Rand der Miete entfernt und 6 in der Mitte in einer Schrägstellung von 45° zur Horizontale.
- 3) In 110 cm Höhe wurden 6 Proben über die gesamte Fläche der Miete verteilt und 10 cm hoch mit Müllmaterial abgedeckt.

Um den Temperaturablauf während des Versuches beobachten zu können, wurden zwei Thermometer in die Miete gebracht, ein Thermometer in der Mitte und das zweite seitlich in einer Tiefe von 30 cm von der Seitenfläche in die sog. "Pilzschicht". Diese Schicht ist durch ein weißes Mycelwachstum erkennbar.

Temperaturverlauf in der Miete:

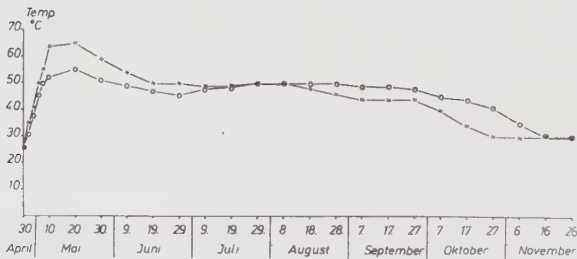


Abb. 5

x —x: in 30 cm Tiefe von der Seitenfläche

o —o: in der Mitte der Miete

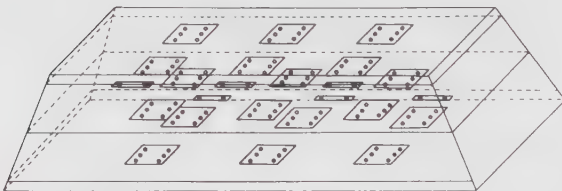


Abb. 6

Schematische Darstellung der Probefolien in der Versuchsmiete. Die dünn gezeichneten Folien sollen die Schrägstellung der sechs Proben in der Mitte der Miete darstellen.

b) Freilandversuch mit Boden

Für den Freilandversuch mit Boden wurden die 40 x 40 cm großen Probefolien wie für die Versuche mit Müll vorbereitet und in Schrägstellung etwa 30° zur Horizontale in 40 cm Tiefe - am 15. April - im Boden eingebracht.

Von jeder Folienart wurden drei Parallelen angelegt. Der verwendete Boden war ein im vorhergehenden Jahr mit Humus gedüngter, mittelschwerer Gartenboden, der noch vor dem Einlegen der Proben mit NPK - Dünger versehen worden war. Um die natürlichen Gegebenheiten nachzuahmen, wurde die $1,5 \text{ m}^2$ große Versuchsfläche mit Sommerraps bepflanzt.

Vier Wochen nach der Probearbeitung hatte der Boden einen H_2O - Gehalt von 23,11 % (auf ofentrockener Basis), einen PH - wert von 7 und eine Keimzahl von 36,93 Mio. Bakterien und 0,164 Mio. Pilzen pro Gramm Boden.

Der Temperaturverlauf in der Versuchszeit (4 Monate) wurde unter Zuhilfenahme zweier Thermometer in der Tiefe von 30 cm - die Thermometer wurden an zwei Enden der Versuchsfläche angebracht - im Boden verfolgt und registriert.

Die Temperaturkurve in Abb. 7 zeigt die Mittelwerte der beiden Temperaturmessungen, die sich sehr geringfügig unterschieden.

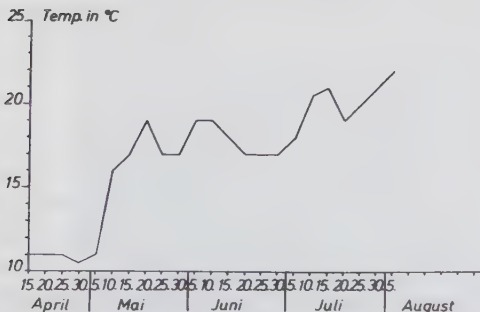


Abb. 7

c) Gefäßversuch mit Torf

In einer 90 x 50 x 30 cm großen Plastikwanne gefüllt mit Torf wurde von jeder Folienart eine Probe (20 x 20 cm groß) in Schrägstellung ca. 30° zur Horizontale eingebracht. Das Gefäß stand während der Versuchszeit in einem temperierten Raum bei 30°C; die Gefäßtemperatur betrug 28°C.

Das Torfmaterial wurde ständig feucht gehalten. Nach drei Monaten wurden die Folien entnommen und wie die Proben aus Müll und Boden behandelt.

d) Prinzip der Folienbehandlung und Isolierung von Mikroorganismen von Folien, die den Einflüssen von Müll, Boden und Torf ausgesetzt waren.

Nach sechs Wochen wurde der Mietenkamm ausgeräumt und die sechs in 10 cm Tiefe liegenden Folien zwecks Untersuchung und Isolierung von Mikroorganismen entnommen. Die Miete hatte in dieser Zeit noch eine Temperatur von 52°C. Infolgedessen wurden nur thermophile Organismen gefunden. Die Polyterephthalsäureesterfolie (Hostaphan R 75) war zu diesem Zeitpunkt bereits seit etwa drei Wochen nach Versuchsbeginn durch mechanische Einwirkungen aus der Miete gerissen, die Cellophanfolie hatte sich vollkommen zersetzt, so daß von ihr keine Spur an dem Drahtbügel gefunden wurde. Aus diesen Gründen schieden beide Folien aus diesem Versuch im thermophilen Bereich aus. Die restlichen vier Folienarten

1. Hochdruckpolyäthylen (Suprathen NR 50)
2. Polypropylen (Trespaphan NN 20)
3. Celluloseacetat (Acetatfolie N 50)
4. Genotherm (PVC - hart) wurden auf folgende Weise behandelt, untersucht und zur Isolierung angesiedelter Mikroorganismen verwendet.

Die Folien wurden mit einem Pinsel von oberflächlichem Schmutz befreit, unter der Lupe untersucht und von jeder Folie ein Kreis von 5 cm Durchmesser ausgeschnitten. Die Folienscheiben

wurden unter starkem Wasserstrahl mit einem sterilen Pinsel gut gewaschen und zum Zwecke der Isolierung von fest anhaftenden Mikroorganismen auf Malzagar bzw. Fleisch-Hefeextrakt-Agar gelegt und bei 50°C bebrütet. Nach 24 Stunden wurden die Folienscheiben von den Platten entfernt und diese 24 Stunden weiterbebrütet. Die auf dem Nähragar gewachsenen Mikroorganismen wurden isoliert und auf Schrägagar aufbewahrt. Bei der Isolierung der Mikroorganismen aus Müll, Boden und Torf im mesophilen Bereich wurden die Folien wie oben behandelt, aber bei 30°C bebrütet. Der Folienrest wurde in 1 cm große Stücke geschnitten, sorgfältig gewaschen, getrocknet, mit Acridinorange, Toepfer et al. (1970), im Mischungsverhältnis 1 : 750 gefärbt, unter dem Fluoreszenzmikroskop und dem normalen Lichtmikroskop beobachtet und in manchen Fällen fotografiert. Die Färbung der Präparate mit Acridinorange diente dem Zweck, die Mikroorganismen auf dem fast farblosen Hintergrund deutlicher sichtbar zu machen. Hierfür ist außer der Konzentration des Acridinorange noch die Einfärbungszeit (ca. 1 - 1,5 Minuten) und die gründliche Nachspülung mit Wasser von Bedeutung. Makroskopische und mikroskopische Betrachtungen der Folien ergaben, daß sie mehr oder weniger dicht mit Pilzmycelien bewachsen waren. (Abb. 8 und 9).

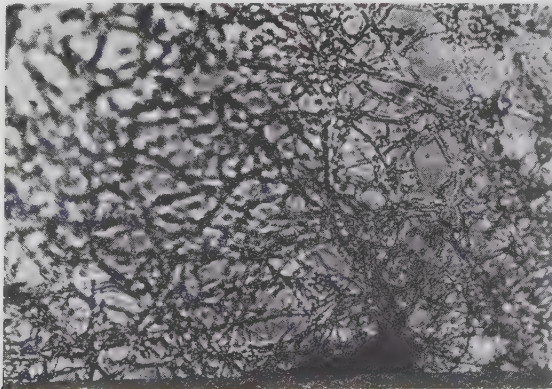


Abb. 8

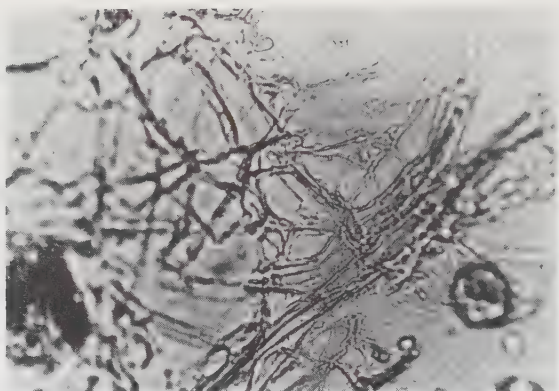


Abb. 9

Abbildung 8 und 9 zeigen die Überwucherung der Folien durch Pilzmycelien.

Die Aufnahmen sind nach der Färbung mit Acridinorange gemacht worden (45 x).

Stellenweise Verfärbungen jeglicher Art und Aufrauhungen der glatten Folienoberfläche erweckten oft den Eindruck eines biologischen Angriffs. Dieser ist nur dann sichergestellt, wenn sich Mycelien und Verfärbungen durch starkes Waschen nicht entfernen lassen. Die nach dem Waschen an den Folien haftenden Organismen wurden isoliert und für die Warburg - Atmungsversuche verwendet.

e) Impfmateriail für Warburg - Atmungsversuche

Wie schon erwähnt, wurden Mikroorganismenstämmen von Folien isoliert, die in Boden, Müll und Torf eingegraben waren, und als Reinkulturen auf Schrägagar aufbewahrt. Zusätzlich zu diesen Mikroorganismen wurden bei den Atmungsversuchen nach Warburg Stämme verwendet, die in Literaturangaben als aggressiv geschildert wurden; außerdem ein Pilz, der vom Kunststoffschlauch isoliert war. In der Literatur, die auf diesem Gebiet vorliegt, wird nur von der Verwendung von Reinkulturen für diese Art von Versuchen berichtet. Um den natürlichen

Gegebenheiten möglichst nahe zu kommen, erschienen Mischkulturen jedoch geeigneter.

Aus diesen Überlegungen heraus wurden für die manometrischen Versuche nach Warburg Mischkulturen verwendet, und zwar in der Mischungsform wie sie aus den einzelnen Folienarten nach gründlichem Waschen herausisoliert worden waren; d.h. manchmal waren auch nur einzelne Stämme auf den Folien vorhanden. Es scheint, daß manche Kulturen für bestimmte Folienarten spezifisch sind, während andere auf mehreren Folien vorkamen. Voraussetzung ist ein gründliches Auswaschen der Folien vor Isolierung der Stämme, denn nur so erhält man die Stämme, die fest an der Folie haften. Es ist damit jedoch nicht unbedingt gesagt - wie die Versuchsergebnisse mit der Warburg - Apparatur zeigen werden -, daß diese Stämme die Folien bzw. die Foliengrundsubstanzen angreifen und zersetzen können.

Bei der Herstellung des Impfmateri als muß man Pilze und Bakterien unterschiedlich behandeln, denn es ist erforderlich, die Pilzsuspension zu homogenisieren (Zerkleinerung des Pilzmycels), bei Bakterien ist das meistens nicht notwendig. Deshalb wird die Herstellung des Impfmateri als von Pilzen und Bakterien getrennt beschrieben.

Bei diesen Versuchen ist die Keimzahl der Bakterien und die Anzahl der Mycelstücke bei den Pilzen pro ml Impfmateri als von großer Bedeutung, und zwar soll sie die Größenordnung von 10^7 nicht unterschreiten. Die verwendeten Keimsuspensionen hatten Keimzahlen von 10^7 bis 10^9 pro ml Impfmateri als.

I. Pilze:

50 - 250 ml Erlenmeyerkolben - gefüllt mit 25 - 120 ml Malzbouillon, je nach Menge des gebrauchten Impfmateri als - wurden aus den Schrägröhrchen mit Mycelstücken beimpft. Die Kolben wurden entsprechend ihrer Wachstumsgeschwindigkeit als Schüttel - oder Ruhekultur bei unterschiedlichen Temperaturen (mesophile bei 30°C , thermophile bei 48°C) 24 - 48 Stunden bebrütet.

Auf diese Weise gewachsene Pilzmycelien waren trotz starken Schüttelns meistens so grob, daß man sie für Versuche solcher Art nicht verwenden konnte. Das gleiche galt auch für nicht

geschüttelte gewaschene Pilzmycelien. Die Mycelien mußten deshalb soweit zerkleinert werden, bis eine gut homogenisierte Keimsuspension entstand, ohne daß einzelne Zellen beschädigt wurden. Nach langen Versuchen mit verschiedenen Homogenisierungsverfahren wurde eine einfache Methode entwickelt, die sich als ausgezeichnet erwies. Der Inhalt der Kolben wurde erst 3 x 30 Minuten zentrifugiert und mit doppeltdestilliertem Wasser gewaschen. Zu den zentrifugierten Pilzmycelien wurde eine entsprechende Menge Nährlösung (Minerallösung + 50 mg Glukose/l) gegeben und mehrfach kräftig geschüttelt. Dieses Material wurde homogenisiert mit Hilfe eines elektrischen Mixers (WARING Commercial blender) mit eingebautem Messer in Glasflaschen von 500 ml, die gut zu sterilisieren waren. Bei dem Grobmaterial wurden die Ausgangsmycelien je nach ihrer Feinheit 10 - 20 sec. zerkleinert. Diese Zeit erwies sich als ausreichend, obwohl Vorversuche zur Bestimmung der Homogenisierungszeit gezeigt hatten, daß die Zellen sogar bei einer Zerkleinerungszeit von 40 sec. nicht beschädigt wurden.

II. Bakterien:

Bei Bakterien ist die Herstellung einer homogenen Keimsuspension wesentlich einfacher als bei Pilzen. Nach Überimpfen der Bakterienstämme aus dem Schrägröhrchen in Kolben mit Fleisch-Hefeextrakt-Bouillon - je Kultur eine oder mehrere Ösen - war eine zusätzliche Homogenisierung der Suspension z.B. bei Pseudomonaden nicht erforderlich. Bei haut- und sedimentbildenden Bakterien reichte dauerndes oder periodisches Schütteln zur Homogenisierung aus. Bei besonders starker Hautbildung wurden die Kulturen alle 5 bis 10 Stunden je ca. 30 bis 60 sec. mit Hilfe eines elektrischen Rührers (Janke & Kunkel KG) mit einem gebogenen sterilen Glasstab unter Abdeckung mit steriler Watte umgerührt.

5. Versuchsanordnung bei den manometrischen Versuchen

Von 6 Gefäßen, die mit dem Schreiber in Verbindung waren, dienten zwei als Kontrolle. In jedes Kontrollgefäß wurden 3 ml

Keimsuspension (Mikroorganismenmasse + Minerallösung + 50 mg Glukose/l) einpipettiert. In die übrigen 4 Gefäße wurden je Gefäß zusätzlich zu den 3 ml Keimsuspension (wie bei der Kontrolle) 50 mg der zu prüfenden Substanz in Pulverform zugegeben. Zur Absorption des sich entwickelnden CO_2 wurden 0,25 ml in KOH verwendet.

Da während langer Versuchszeiten bis zu 30 Stunden bei Versuchen dieser Art oft mit dem Ausfall einiger Gefäße gerechnet werden muß, ist der Ansatz von mindestens 4 Parallelgefäßen notwendig. Die dicht verschlossenen und an den Manometer angeschlossenen Gefäße wurden im Wasserbad bei bestimmten Temperaturen (Mesophile 30°C , Thermophile 48°C) nur leicht geschüttelt, da starkes Schütteln das Anhaften der Mikroorganismen an das Material erschweren würde. Das Schütteln soll die Diffusion der Atmungsgase erleichtern, ohne die Mikroorganismen von der Probesubstanz zu trennen. Eine Diffusion würde sowieso stattfinden, da die Höhe der Flüssigkeitsschicht (3 ml Keimsuspension) in dem Gefäß nur 3 mm beträgt.

Aus diesem Grund wurden die Versuche bei einer Schüttelfrequenz von 30 - 35 pro Minute und einer Schüttelamplitude von 40 mm durchgeführt (im Gegensatz zu Untersuchungen von Schwartz: Schüttelzahl 85 - 90, Schüttelamplitude 70 mm). Vor dem eigentlichen Warburg - Respirometer Versuch wurde eine Reihe Vorversuche mit jedem Kunststoffpulver durchgeführt. Die Versuchsdauer betrug hier 40 Stunden, im Hauptversuch 15 - 30 Stunden. Bei diesen Vorversuchen handelte es sich um eine unbeimpfte Nährlösung + Kunststoffpulver, um festzustellen, ob etwas Sauerstoff von dem Versuchsmaterial aufgenommen bzw. irgendein Gas vom Material abgegeben wurde. Die Ergebnisse waren negativ.

III. Ergebnisse

A. Ergebnisse der Versuche in Petrischalen

Wie schon anfangs erwähnt, wurden die Petrischalen makroskopisch und mikroskopisch beurteilt, d.h. zuerst das Gesamtwachstum auf dem Nährboden, in der Nährlösung oder auf dem Kunststoffstreifen. Die Kunststoffstreifen wurden vor und nach dem gründlichen Waschen unter der Lupe und unter dem Mikroskop untersucht. Die Streifen wurden von der unteren Seite mit einem Skalpell abgekratzt; auf diese Weise wurden die Plastikplatten verdünnt. Dadurch wurde eine bessere Beleuchtung der oberen Seite des Streifens ermöglicht und fotografiert. Von den PVC - Streifen ließen sich keine Aufnahmen machen, da das Material dunkel und undurchsichtig war und sich wegen der Härte der Oberfläche nicht verdünnen ließ.

Hier werden nur die Ergebnisse wiedergegeben, bei denen man ein deutliches Wachstum von Mikroorganismen auf den Streifen beobachten konnte, und die nach dem Waschen eine Verfärbung oder Veränderung des Materials - wenn auch nur oberflächlich - gezeigt hatten.

Die Ergebnisse mit den verschiedenen Impfmaterialien werden im folgenden tabellarisch zusammengefaßt.

Es bedeuten:

M = Minerallösung

a = Agar

+ : mit

Gl = Glukose

- : ohne

sis= Sisdamid

PVC= Polyvinylchlorid hart

(-) : Keine Änderung des Materials, obwohl in vielen Fällen ein mehr oder weniger starkes Wachstum von Mikroorganismen auf dem Nährboden, in der Nährlösung oder auf dem Streifen zu beobachten war.

Kontrolle: Minerallösung mit oder ohne Agar mit Kunststoffstreifen nicht beimpft.

Nährboden	Impfmateri- al	Kunst- stoff	makroskopische und mikro- skopische Beurteilung der Petrischale
M+a+1%Gl	A ₇ (Bac. ce- reus var. my- coides)	sis	(-)
M+a+0,5%Gl	A ₇	sis	(-)
M+a+0,25% Gl	A ₇	sis	(-)
M+a+0,1%Gl	A ₇	sis	Es wurde ein geringes Wachs- tum über den ganzen Nähr- boden und an einigen Stel- len auf dem Plastikstreif- en beobachtet. Die Kolo- nien waren sehr klein. Nach gründlichem Abwaschen der Streifen traten an man- chen Stellen, direkt unter den Kolonien, winzig klei- ne, runde, bräunlich ge- färbte Flecken in Erschei- nung. Die Oberfläche des Materials war an diesen Stellen etwas weicher und glatter. (Abb. 10)
M+a-Gl	A ₇	sis	Nach drei Monaten war A ₇ nicht mehr lebensfähig.
Kontrolle			(Abb. 11) (-)
M-a+1%Gl	A ₇	sis	In den ganzen Nährboden war A ₇ sehr gut gewachsen, an drei Stellen auch auf dem Streifen mit relativ großen Kolonien. Die Kolo- nien wurden durch Wa- schen von dem Material entfernt. An einer Stelle war das Material unter der A ₇ Kolonie weicher und rauer als sonst. Es war aber keine Farbände- rung festzustellen.
M-a+0,5%Gl	A ₇	sis	(-)
M-a+0,25% Gl	A ₇	sis	(-)
M-a+0,1%Gl	A ₇	sis	(-)



Abb. 10

Die oberflächliche Veränderung der Sisdamidstreifen durch Bacillus cereus var. mycoides (10 x)

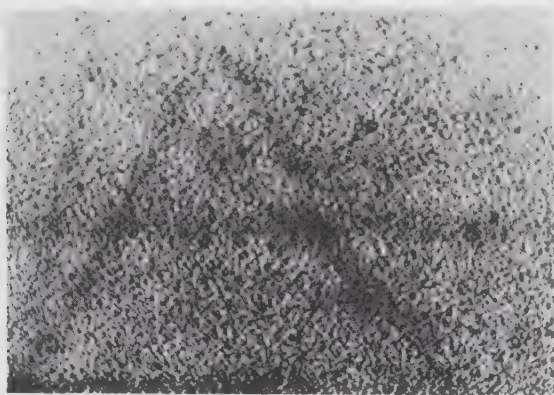


Abb. 11

Kontrollstreifen von Sisdamid auf nichtbeimpfter Schale (10 x)

Nährboden	Impf- material	Kunststoff	makroskopische und mikrosko- pische Beurteilung der Pe- trischale
M-a-Gl	A ₇	sis	Es konnte eine sehr leichte Trübung der Nährlösung festgestellt werden, An den Seitenkanten des Streifens waren sehr kleine zerstreute Kolonien von A ₇ gewachsen. An dem Material war keine Änderung festzustellen. Nach einem Ausstrich von der Nährlösung auf Fleisch-agarplatten konnte bewiesen werden, daß A ₇ trotz Nichtvorhandenseins einer C-Quelle außer dem Kunststoffmaterial nach 3 Monaten immer noch lebensfähig war.
Kontrolle			(-)
M+a+1%Gl	A ₇	PVC	(-)
M+a+O, 5%Gl	A ₇	PVC	(-)
M+a+O, 25%Gl	A ₇	PVC	(-)
M+a+O, 1%Gl	A ₇	PVC	(-)
M+a-Gl	A ₇	PVC	(-)
Kontrolle			(-)
M-a+1%Gl	A ₇	PVC	(-)
M-a+O, 5%Gl	A ₇	PVC	In der Nährlösung und an einigen Stellen der Streifen war ein schwaches Wachstum zu sehen. Von den 6 kleinen Kolonien, die auf dem Kunststoffmaterial gewachsen waren, befanden sich zwei auf den blasenähnlichen Erhebungen der Materialoberfläche. Die Kolonien konnten leicht abgewaschen werden. Nach dem Waschen war die Blasen- haut an einigen Stellen sehr fein durchlöchert. Die Reststücke von A ₇ klebten noch relativ fest auf den Blasen, sonst keine Änderung der Streifenoberfläche.
M-a+O, 25% Gl	A ₇	PVC	

Nährboden	Impf-material	Kunst-stoff	makroskopische und mikroskopi-sche Beurteilung der Petrischale
M+a+0,1%Gl	A ₇	PVC	Bei dieser Schale mit einem ge-ringen Wachstum waren weniger A ₇ Kolonien. Erstaunlich war das Verschwinden der Blasenhaut an drei Stellen. A ₇ saß nun rela-tiv fest am Grund der entstande-nen kraterähnlichen Löcher.
M-a-Gl	A ₇	PVC	Nach drei Monaten war A ₇ nicht mehr lebensfähig.
Kontrolle			(-)
M+a+1%Gl	A ₈ (Nigro-spora sphaerica)	sis	(-)
M+a+0,5%Gl	A ₈	sis	(-)
M+a+0,25% Gl	A ₈	sis	Auf der ganzen Schale war ein Wachstum von A ₈ zu sehen. Auf dem Streifen selbst jedoch war kein Wachstum feststellbar, aber A ₈ war von dem Nährboden aus seitlich etwas über das Kunststoffmaterial gewachsen. Nach dem Waschen der Plastik-streifen wurde ein Wachstum von A ₈ an den nicht glatten Seiten-kanten des Prüfmateri als deut-lich sichtbar. An manchen Stel-len der Seitenkanten war das Material leicht graubraun ge-färbt; an diesen Stellen waren die scharfen Kanten der nicht glatten Fläche ein wenig abge-rundet.
M+a+0,1%Gl	A ₈	sis	(-)
M+a-Gl	A ₈	sis	Nach drei Monaten war A ₈ nicht mehr lebensfähig. (-)
Kontrolle			(-)

Nährboden	Impf- material	Kunst- stoff	makroskopische und mikroskopi- sche Beurteilung der Petrischale
M-a+1%G1	A ₈	sis	A ₈ war in der Nährlösung gut ge- wachsen und mit einer relativ großen Kolonie (ca. 1 cm Durch- messer), auch auf dem Streifen vorhanden. Unter der Kolonie war das Material gelbbraun ge- färbt, glänzend und weicher als an den übrigen Flächen. Außer der Verfärbung an dieser Stelle waren die Flecken von sehr fei- nen Kratzern umgeben oder durch- zogen. (Abb. 12)
M-a+O,5%G1	A ₈	sis	(-)
M-a+O,25% G1	A ₈	sis	(-)
M-a+O,1%G1	A ₈	sis	(-)
M-a-G1	A ₈	sis	Nach drei Monaten war A ₈ nicht mehr lebensfähig. (-) ⁸
Kontrolle			(-)
M+a+1%G1	A ₈	PVC	(-)
M+a+O,5%G1	A ₈	PVC	(-)
M+a+O,25% G1	A ₈	PVC	(-)
M+a+O,1%G1	A ₈	PVC	(-)
M+a-G1	A ₈	PVC	Nach drei Monaten war A ₈ nicht mehr lebensfähig. (-) ⁸
Kontrolle			(-)
M-a+1%G1	A ₈	PVC	(-)
M-a+O,5%G1	A ₈	PVC	In der ganzen Nährlösung war A ₈ wenig gewachsen, dagegen konnte man ein geringes Wachstum am Glasbügel und den Seitenkanten der PVC-Streifen feststellen. An den rauen Seitenkanten hatte A ₈ einen schlammartigen Belag ge- bildet. Nach gründlichem Waschen war das Material stellenweise an den Seiten gebleicht. Die ge- bleichten Flecken besaßen sehr feine ebenfalls leicht entfärbte Ausläufer. Das PVC schien an den Seiten etwas spröde geworden zu sein.

Nährboden	Impf- material	Kunst- stoff	makroskopische und mikroskopi- sche Beurteilung der Petrischale
M-a+O, 25% Gl	A ₈	PVC	(-)
M-a+O, 1%Gl	A ₈	PVC	Belagbildung an den Seitenkan- ten und teilweise Entfärbung des Plastikmaterials.
M-a-Gl	A ₈	PVC	Ein sehr geringes Wachstum in der Nährlösung feststellbar. A ₈ war nach drei Monaten immer noch lebensfähig. Das größte Wachs- tum von A ₈ war auch bei dieser Platte an den Seitenkanten fest- zustellen. Es wurde aber keine Entfärbung oder sonstige Ande- rung an den PVC-Streifen bemerkt.
Kontrolle			(-)
M+a+1%Gl	A ₁ (Phia- lophora sp., Asp. flavus)	sis	(-)
M+a+O, 5%Gl	A ₁	sis	<u>Phialophora</u> sp. war ein wenig auf dem Nährboden, aber nicht auf dem Streifen gewachsen. Ein gutes Wachstum von <u>Asp. flavus</u> war vom Nährboden her über den Streifen zu sehen. <u>Asp. flavus</u> hatte einen leichten Abdruck auf dem Material hinterlassen, so daß die Hyphen sehr schlecht von der Sisdamidoberfläche zu entfernen waren. Die Oberfläche des Plastikmaterials war von feinen Kratzern überzogen. (Abb. 13)
M+a+O, 25% Gl	A ₁	sis	(-)

Nährboden	Impf- material	Kunst- stoff	makroskopische und mikroskopi- sche Beurteilung der Petrischale
M+a+O,1%Gl	A ₁	sis	Auf dem Nährboden war <u>Asp. fla-</u> <u>vus</u> sehr wenig gewachsen. <u>Phia-</u> <u>lophora sp.</u> war auch sehr spär- lich vorhanden. An einigen Stel- len hatte <u>Phialophora sp.</u> auf dem Streifen sehr kleine Kolo- nien gebildet. Unter der Kolo- nie war das Material schwarz gefärbt und zeigte im Zentrum eine Vertiefung. Abb. 14 Die Hyphen hatten sich seitlich erweitert. Die Flecken bildeten etwa das gleiche Bild von <u>Phia-</u> <u>lophora sp.</u> wie bei dem Wasser- schlauch. Siehe S. 19 Abb. 1 und 2.
M+a-Gl	A ₁	sis	(-)
Kontrolle			(-)

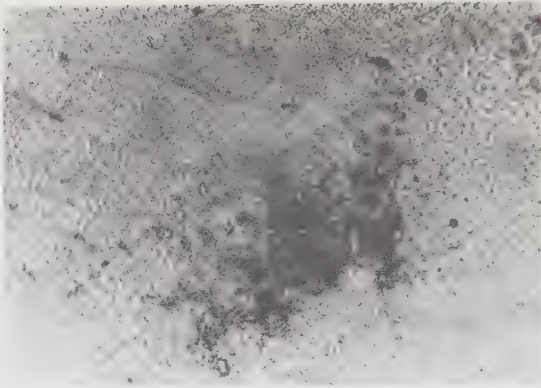


Abb. 12

Die Veränderung der Oberfläche von Sisdamidstreifen durch das Wachstum von Nigrospora sphaerica (10 x)

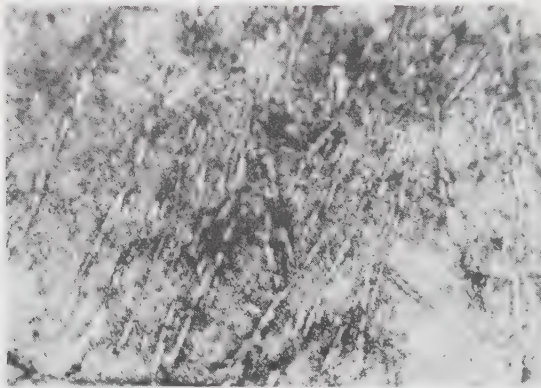


Abb. 13

Hyphenabdrücke von Aspergillus flavus auf Sisdamidstreifen (45 x)

Nährboden	Impf- material	Kunst- stoff	makroskopische und mikroskopi- sche Beurteilung der Petrischale
M-a+1%Gl	A ₁	sis	(-)
M-a+0,5%Gl	A ₁	sis	(-)
M-a+0,25% Gl	A ₁	sis	<u>Asp. flavus</u> und <u>Phialophora</u> sp. waren sehr wenig in der Nährlö- sung gewachsen. Auf dem Streifen bildeten sie sehr kleine Kolo- nien. Unter den <u>Asp. flavus</u> Ko- lonien war keine Änderung des Materials festzustellen. Bei einigen <u>Phialophora</u> Kolonien war wieder die Schwarzfärbung und Vertiefung des Materials unter dem Mittelpunkt der Kolo- nie deutlich zu erkennen. Wegen der Konzentrationsänderung der Nährlösung hatten sich sehr fei- ne Salzkristalle an den Hyphen gebildet. (Abb. 15)
M-a+0,1%Gl	A ₁	sis	(-)
M-a-Gl	A ₁	sis	Nach drei Monaten war A ₁ nicht mehr lebensfähig. (-) ¹
Kontrolle			(-)
Bei allen verwendeten Nährböden war an keinem der PVC - Strei- fen eine Änderung durch A ₁ feststellbar, auch nicht bei der Kontrollplatte.			
M+a+1%Gl	A ₂ (Bakt.- mischkul- turen)	sis	(-)
M+a+0,5%Gl	A ₂	sis	(-)
M+a+0,25% Gl	A ₂	sis	(-)
M+a+0,1%Gl	A ₂	sis	(-)
M+a-Gl	A ₂	sis	Nach drei Monaten war A ₂ nicht mehr lebensfähig. (-) ²
Kontrolle			(-)
M-a+1%Gl	A ₂	sis	(-)
M-a+0,5%Gl	A ₂	sis	(-)

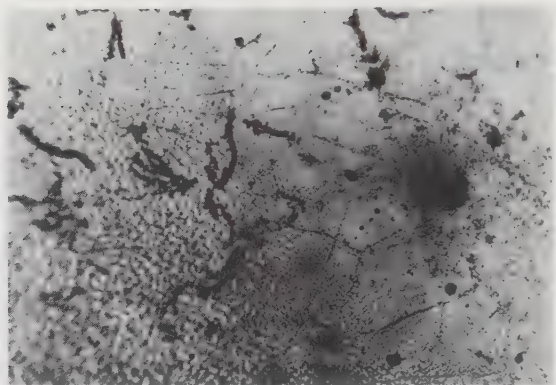


Abb. 14

Die Verfärbung und Veränderung der Sisdamidstreifen durch Phialophora sp. (10 x)

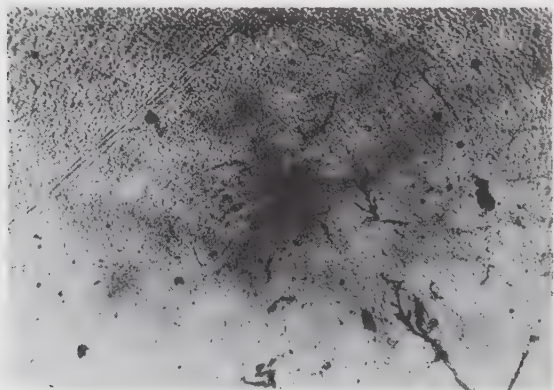


Abb. 15

Die Veränderung der Sisdamidstreifen durch Phialophora sp. Durch Konzentrationsänderung der Nährlösung haben sich an den Hyphen feine Salzkristalle gebildet. (10 x)

Nährboden	Impf- material	Kunststoff	makroskopische und mikrosko- pische Beurteilung der Petrischale
M-a+0,25% Gl	A ₂	sis	In der Nährlösung war kein Wachstum feststellbar. Auf dem Streifen waren 5 gelbgrüne kleine Kolonien gewachsen (Pseudomonaden!?) Unter den Kolonien hatte sich Sisdamid watteartig verändert und die Bakterien saßen oberflächlich in den watteähnlichen runden Flächen, so daß sie durch Waschen nicht entfernt wurden. Das Material war in den runden Flecken heller und weicher als auf der übrigen Fläche. (Abb. 16)
M-a+0,1%Gl	A ₂	sis	Ein sehr geringes Wachstum am Glasbügel und drei sehr kleine Kolonien auf dem Streifen unter den Kolonien, sonst wie bei M-a+0,25%Gl.
M-a-Gl	A ₂	sis	Nach drei Monaten waren die gelbgrünen glänzenden Kolonien nicht mehr lebensfähig. (-)

A₂ hatte auf PVC - Streifen keine Änderung hervorgerufen.

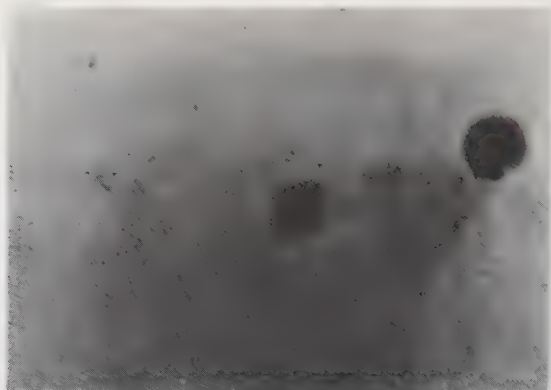


Abb. 10

Fleckenweise aufsteigende Veränderung der Sisdamidstreifen durch gelegene Bakterienkolonien. (10 X)

Die Beurteilung der resultierenden Petrischalen, d.h. der Schalen mit Sisdamid- und PVC-Streifen in flüssigen wie auch auf festen Nährböden, beimpft mit A_1 , A_4 , A_5 und A_6 Kulturen muß summarisch dargestellt werden.

Auf keinem PVC-Streifen wurden Änderungen festgestellt. Die Sisdamidstreifen zeigten bei den beimpften Petrischalen mit A_4 und A_5 in Mangelnährböden (0,1 - 0,5% Glukose) mehr oder weniger die gleichen Veränderungen und Verfärbungen des Materials wie die mit A_1 beimpften Sisdamidplatten.

In den meisten Fällen waren hier auch wieder der aggressive Pilz Phialophora sp. und in einigen Fällen Asp. flavus beteiligt.

Die Veränderungen an den mit A_4 und mit A_5 beimpften Sisdamidplatten zeigten dagegen nur in sehr wenigen Fällen eine schwache Aufhellung oder hellbraune Verfärbung des Materials unter ihren Kolonien.

Ein auffälliger Angriff bei den Platten war nicht festzustellen.

Am Schluß der Beurteilung der Versuche in Petrischalen muß auf folgendes hingewiesen werden: wie aus den Ergebnissen zu entnehmen ist, waren die meisten Angriffe der Mikroorganis-

men in Mangelnährböden stattgefunden (Nährböden mit 0,1 - 0,5% Glukose). Diese Erfahrung diente denn später als Grundlage zur Verwendung von Glukose in sehr geringen Konzentrationen als sogenannter Starter in den manometrischen Versuchen nach Warburg. (Vgl. II B 3)

B. Mikrobiellbedingte Veränderungen an den in Müll, Boden
und Torf gelagerten Folien.

Es war nicht zu erwarten, daß die Kunststofffolien in der relativ kurzen Versuchszeit, in Müll 7 Monate,
in Boden 4 Monate und
in Torf 3 Monate eine totale Zersetzung durch Mikroorganismen erfahren würden. Diese Versuchszeit ist im Vergleich zu der hohen Stabilität der Kunststoffe sehr kurz. Die Folien, die dem mikrobiellen Einfluß in Müll unterworfen waren, zeigten stärkere Veränderungen als die in Boden und Torf. Bei den verschiedenen Folienarten fanden sich einige Proben, die auf Grund einer lokalen Austrocknung in der Müllmiete außer einer geringen oberflächlichen Verfärbung keine anderen Veränderungen aufwiesen.

Manche von den Folien, z.B. Polyäthylenfolien hatten sich über die gesamte Folienfläche oder Polypropylen- und Celluloseacetatfolien fleckenweise matt gefärbt. Alle sonstigen Proben litten unter Versprödung. Die Folien waren mehr oder weniger stark stellenweise mit Pilzhypen bedeckt. Es handelte sich hier nicht um Kolonien von Pilzen, sondern vielmehr um einen watteähnlichen Bewuchs von einem Hyphengeflecht. Auch Bakterienkolonien verschiedener Farbe, die in ihrer Koloniengröße oft nicht die Größe eines Stecknadelkopfes überschritten hatten und oft von Pilzmycel überwuchert waren, wurden beobachtet. Bei den Folien, die im thermophilen Bereich der Miete gelagert waren, war nur ein einziger Pilz zu erkennen, Thermomyces lanuginosus. Von den Bakterien konnte man nur einige wenige unterschiedliche Kolonien wahrnehmen. Die Veränderungen an Folien wurden erst nach starkem Waschen der Folien ausgewertet. Große Veränderungen waren an den Celluloseacetat- und Polyterephthalsäureesterfolien zu erkennen. Diese Folien haben sich dem mikrobiellen Angriff gegenüber grundsätzlich nicht wesentlich anders verhalten als z.B. Polyäthylen- und Polypropylenfolien. Die mikrobiellen Veränderungen der Folien können hier summarisch erläutert werden. Die Folien zeigten oft starke, manchmal

tiefgreifende Verfärbungen. Die Skala der Verfärbung reichte von farblos über hellgelb, gelb, rosa, hellbraun bis zu dunkelbraun, wobei verschiedentlich auch eine Trübung zu sehen war. Die Kunststofffolien zeigten neben Verfärbungen stellenweise Veränderungen; an diesen Stellen war die Oberfläche der Folien - unter dem Vergrößerungsglas betrachtet - rau und weicher als die übrigen Flächen.

Nicht selten war ein schleimiger Zustand der Oberfläche zu erkennen. An manchen Stellen waren die Folien so dünn geworden (außer PVC - Folien), daß innerhalb einer kleinen Fläche (ca. 10 x 10 mm) die Folie durch leichten Druck zerstört werden könnte. Die Veränderungen an den Folien befanden sich sehr oft an den Stellen, an denen durch mechanisch verursachte Kratzer oder an den Löchern der Folien in Müll den Mikroorganismen eine Anhaftungsmöglichkeit gegeben war.

Es ließen sich nicht immer aus allen Folien einer Kunststoffart, die in verschiedenen Lagen innerhalb der Miete eingebracht worden waren, Mikroorganismen isolieren, die die Foliengrundsubstanzen zu zersetzen vermochten, wie die anschließenden Warburg - Versuche zeigten. Die gleichen Angrifferscheinungen wie bei den Folien aus Müll gelten weniger stark auch für die Folien aus Boden und Torf, mit der Ausnahme, daß die Celluloseacetat- und Polyäthylenfolien in Torf relativ massive Oberflächenverschleimung zeigten. Die Oberfläche der Folien ließ sich mit einem Skalpell wie eine schmierige Substanz entfernen.

Von den 75 Versuchen, die mit selbstisolierten Mikroorganismenstämmen (Rein- und Mischkulturen) mit Hilfe des Warburgapparates durchgeführt worden waren, zeigten 30 Versuche positive Ergebnisse. Zu den Versuchen mit selbstisolierten Mikroorganismen kamen noch 15 Versuche mit Bacillus cereus var. mycoides, Pseudomonas aeruginosa und Paecilomyces varioti als Reinkulturen hinzu (aus der Stammsammlung des Institutes) und zusätzlich 5 Versuche mit Phialophora sp. (isoliert aus dem Wasserschlach).

C. Pilz- und Bakterien - Isolierungen von Kunststofffolien,
die in Müll, Boden und Torf eingegraben waren.

In Tabelle 2 sind die Pilz- und Bakterienstämme aufgeführt, die von Folien isoliert wurden und in den respiratorischen Versuchen eine Zersetzung des Prüfmaterials gezeigt hatten. Die Pilze wurden möglichst bis zur Art bestimmt. Zusätzlich wurden noch als physiologische Merkmale unter anderem Säurebildung aus Saccharose (bromkresolgrün-Agar) untersucht. Die Bakterien wurden bis zu ihrer Gattungszugehörigkeit identifiziert. Die Bestimmung erfolgte nach dem Schlüssel von Meyn (1952), der seinerseits auf dem Skerman's (1949) Bestimmungsbuch aufgebaut ist und anschließend mit Bergey's Manual (1957) verglichen wurde.

Tab. 2: Zusammenstellung der Pilz - und Bakterien - Isolierungen der in Müll, Boden und Torf eingegrabenen Kunststofffolien.

a) Pilze

Herkunft	Folienart	Stamm	
Müll	PVC	<i>Thermomyces lanuginosus</i>	Säurebildner
Müll	Polyäthylen	<i>Thermomyces lanuginosus</i>	Säurebildner
Müll	Polypropylen	<i>Thermomyces lanuginosus</i>	Säurebildner
Müll	Polyäthylen	<i>Asp. fumigatus</i> var. <i>ellipticus</i>	Säurebildner isoliert aus allen Polyäthylenfolien
Müll	Polyterephthalsäureester	<i>Asp. fumigatus</i> var. <i>ellipticus</i>	Säurebildner isoliert aus den Folien in der Mitte und 10 cm hoch von der Bodenoberfläche der Miete
Boden	Polypropylen	<i>Mortierella acuminata</i>	Säurebildner
Boden	Celluloseacetat	<i>Mucor hiemalis</i>	Säurebildner

Herkunft	Folienart	Stamm	
Torf	Polyterephthalsäureester	Pen-spinulosum und Humicola grisea	Säurebildner Säurebildner
Torf	Celluloseacetat	Pen. janthinellum	Säurebildner
b) Bakterien			
Müll	Polyäthylen	Bacillus sp. Stamm I	Sporen am Ende der sehr schmalen Zelle, grampositiv, aerob, maximale Wachstumstemperatur 70°C, sehr gutes Wachstum bei 45 - 50°C, Kolonien: flach, rund, gelbbraun.
Müll	Celluloseacetat	Bacillus sp. Stamm II	Sporen zentral gelegert, kleine Zelle mit dicker Spore, grampositiv, aerob, maximale Wachstumstemperatur bei 65°C, sehr gutes Wachstum bei 50°C, Kolonien: fleischig, rund, gelb bis hellbraun.
Müll	Polypropylen	Bacillus sp. Stamm III	Sporen am Ende der Zelle, Zelle schmal, grampositiv, aerob, maximale Wachstumstemperatur 70°C, sehr gutes Wachstum bei 50°C, Kolonien: flach hellbraun.
Müll	PVC		
Müll	Polypropylen	Streptococcus sp.	Diplococci, grampositiv, aerob, isoliert aus der Folie in Schrägstellung.
Müll	Polyäthylen	Serratia Marcencens und Coryneformis Bakterium Stamm I	Grampositiv, Kolonien intensiv rotgefärbt, isoliert aus der Folie in der Mitte Stäbchen, pleomorph, aerob, grampositiv, nicht beweglich, nicht säurefest, bildet in Lackmusmilchsäure wenig Gerinnung, kein Wachstum in Traubenzucker-Essigsäure-Bouillon (pH - 4,5), isoliert aus der Folie in der Mitte

Herkunft	Folienart	Stamm	
Müll	Celluloseacetat	Coryneform- mes Bakterium Stamm 2 und Nitratre- duzieren- des Bakte- rium Stamm a	Ähnlich wie Stamm 1; isoliert aus der Folie in 10 cm hoch von der Bodenfläche der Mie- te aus. Stäbchen, gramnegativ, keine Gasbildung aus 0,1%iger Ni- tratbouillon, sondern nur Nitritbildung, isoliert aus der Folie in 10 cm hoch von der Bodenfläche der Miete aus.
Müll	Polytere- phthalsäu- reester	Coryneform- mes Bakterium Stamm 3	Ähnlich wie Stamm 1; isoliert aus der Folie in der Pilz- schicht.
Müll	Poly- äthylén	Coryneform- mes Bakterium Stamm 4	Ähnlich wie Stamm 1; isoliert aus der Folie in der Pilz- schicht.
Müll	Cellulo- seacetat	Coryneform- mes Bakterium Stamm 5	Ähnlich wie Stamm 1; isoliert aus der Folie in der Pilz- schicht.
Müll	PVC	Strepto- myces sp.	Luftmyzel (Haferflocken- und Peptonagar) im Zentrum der Kolonie grau, am Rand rosa; Myzelunterseite im Zentrum der Kolonie rosa, am Rand olivbraun (Gruppe III unter Kutzner); Sporenträger ge- wellt (sporophore flexuous); auf Glukose, Rhamnose, Saccha- rose, Fruktose, Xylose, Man- nit, Inosit, Arabinose und Raffinose sehr gutes, auf Nähragar gutes Wachstum, Me- lanin negativ; isoliert aus den Folien in Schrägstellung und in der Pilzschicht.
Boden	PVC	Bacillus sp. Stamm IV und Nitratre- duzieren- des Bakteri- um Stamm b	aerob, grampositiv, Sporen dich und zentral gelagert. Ähnlich wie Stamm a

Herkunft	Folienart	Stamm	
Boden	Celluloseacetat	Pseudomonas sp. Stamm c und Bacillus sp. Stamm V	Stäbchen, aerob, gramnegativ, bildet gelb bis gelbgrünes, wasserlösliches Pigment in Glukose - Minerallösung. aerob, grampositiv, Sporen dick und zentral gelagert.
Boden	Polyäthylen	Pseudomonas sp. Stamm d und Bacillus cereus var. mycoides	Ähnlich wie Stamm c
Torf	Polyterephthalsäureester	Bacillus cereus var. mycoides	
Torf	Celluloseacetat	Bacillus sp. Stamm VI	aerob, grampositiv, Sporen zentral gelagert.
Torf	Polyäthylen	Micrococcus sp.	aerob, grampositiv, Coccen in unregelmäßigen Haufen.

D. Ergebnisse der Atmungsversuche nach Warburg

Die Ergebnisse der respiratorischen Versuche nach Warburg - d.h. Verwertung von Kunststoffgrundsubstanzen durch Mikroorganismen in Rein- und Mischkulturen - werden in der Reihenfolge der Isolierungsmedien Müll, Boden, Torf aufgeführt. Anschließend folgen die Versuchsergebnisse mit den vier Vergleichsstämmen.

Wie schon erwähnt, wurden die Bakterien bis zu ihrer Gattungszugehörigkeit bestimmt. Hier werden nur die Gattungsnamen des zu dem Versuch gehörenden Stammes oder der Stämme und das Medium, aus welchem die Mikroorganismen isoliert worden sind, genannt. Weitere physiologische und morphologische Merkmale, die zur Bestimmung der Gattungszugehörigkeit der einzelnen Bakterienstämme geführt haben, sind in Kapitel III C angegeben.

Zeichenerklärung: in der graphischen Darstellung der Atmungsversuche bedeutet stets: — Atmung in den Gefäßen mit Kunststoff, — Atmung in den Kontrollgefäßen ohne Kunststoff

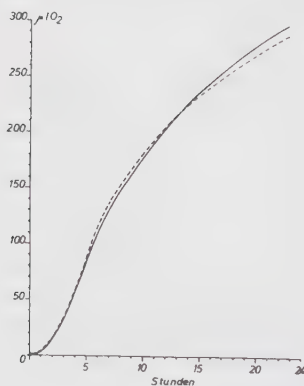


Abb. 17
PVC/Thermomyces lanuginosus,
isoliert aus Müll

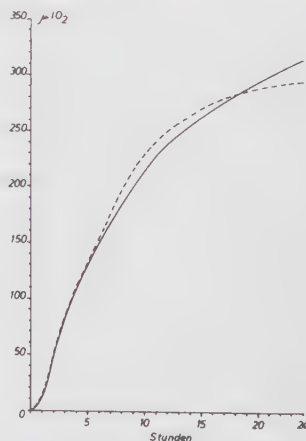


Abb. 18
Polyäthylen/Thermomyces lanu-
ginosus, isoliert aus Müll

PVC und Polyäthylen wiesen eine geringe Zersetzung durch Thermomyces lanuginosus auf. Erst zu einem relativ späten Zeitpunkt des Versuches setzte die Zersetzung ein. Die beiden Atmungskurven (Gefäße mit Kunststoff, Kontrollgefäße ohne Kunststoff) zeigten anfangs einen fast gleichen Verlauf und nach einer Verzögerung schließlich eine intensivere Atmung in den Gefäßen mit Kunststoff (Abb. 17 und 18).

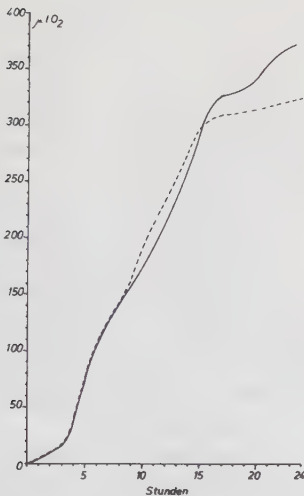


Abb. 19
Polyterephthalsäureester
Thermomyces lanuginosus,
isoliert aus Müll

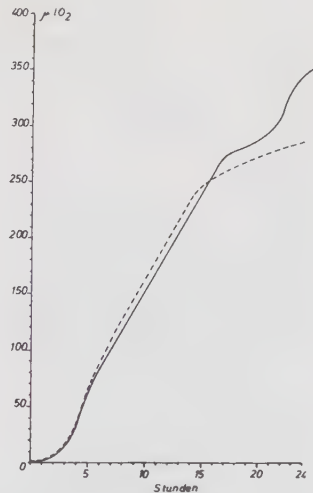


Abb. 20
Polypropylen
Thermomyces lanuginosus,
isoliert aus Müll

Thermomyces lanuginosus zeigte auf Polyterephthalsäureester und Polypropylen eine stärkere Zersetzung, die erst nach ca. 15 Stunden Versuchszeit einsetzte. Die Atmungskurven der Gefäße mit Kunststoffanteil zeigten deutlich einen zweiphasigen Verlauf. Anfangs liefen die beiden Kurven ebenfalls gleich, später wiesen die Atmungskurven der Gefäße mit Kunststoff eine geringe Verzögerung auf und nach etwa 15 Stunden ließ

sich eine starke Zunahme der Atmung in diesen Gefäßen feststellen (Abb. 19 und 20).

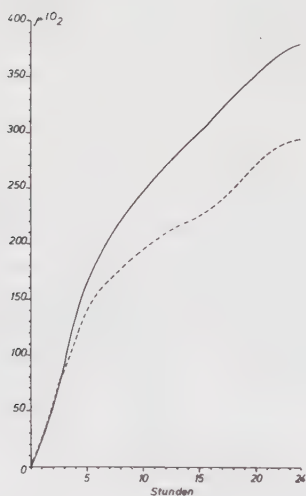


Abb. 21

Celluloseacetat

Bacillus sp. (Stamm I)
Bacillus sp. (Stamm II)
Bacillus sp. (Stamm III),
(drei thermophile Bacillen)
isoliert aus Müll

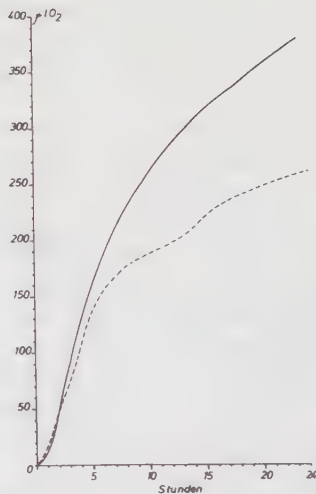


Abb. 22

Polyäthylen

Bacillus sp. (Stamm I)
Bacillus sp. (Stamm II)
Bacillus sp. (Stamm III),
(drei thermophile Bacillen)
isoliert aus Müll

Die 5 Kunststoffgrundsubstanzen wurden am stärksten durch eine Mischkultur von 3 thermophilen Bacillen zersetzt. Bereits während der ersten 5 Stunden setzte bei allen 5 Kunststoffgrundsubstanzen durch diese 3 thermophilen Bacillen die Zersetzung ein. Im Vergleich zu den Kontrollgefäßen zeigten die Gefäße mit Kunststoff auch bei diesen Versuchen anfangs eine Verzögerung (Abb 21, 22, 23, 24 und 25).

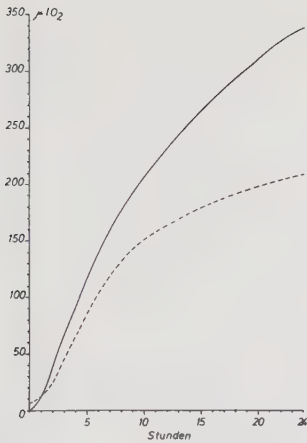


Abb. 23

Polyterephthalsäureester

Bacillus sp. (Stamm I)

Bacillus sp. (Stamm II)

Bacillus sp. (Stamm III),
(drei thermophile Bacillen)

isoliert aus Müll

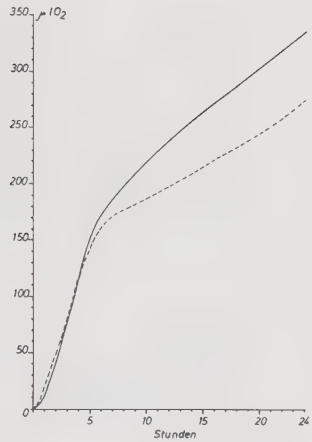


Abb. 24

Polypropylen

Bacillus sp. (Stamm I)

Bacillus sp. (Stamm II)

Bacillus sp. (Stamm III),
(drei thermophile Bacillen)

isoliert aus Müll

Bei den Atmungsversuchen haben die Thermophilen im Vergleich zu den mesophilen Mikroorganismen die größte Aggressivität gegenüber den Probesubstanzen gezeigt.

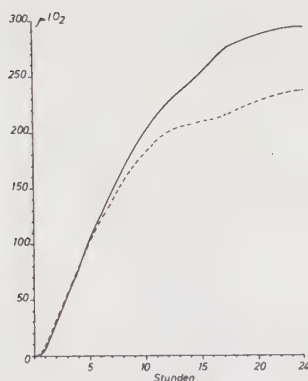


Abb. 25

PVC

Bacillus sp. (Stamm I)
Bacillus sp. (Stamm II)
Bacillus sp. (Stamm III),
(drei thermophile Bacillen)
isoliert aus Müll

Die Atmungskurven von *Asp. fumigatus* var. *Ellipticus* auf Polyäthylen und Polyterephthalsäureester waren sich sehr ähnlich in ihrem Verlauf (Abb. 26 und 27). *Asp. fumigatus* wird in der Literatur als aggressiv gegenüber manchen Kunststoffen geschildert.

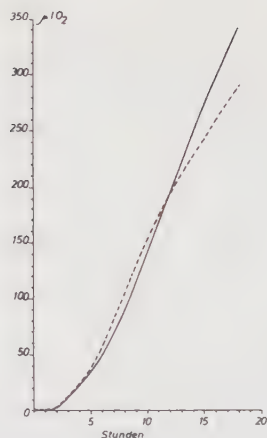


Abb. 26

Polyäthylen

Asp. fumigatus var. *ellipticus*, isoliert aus Müll

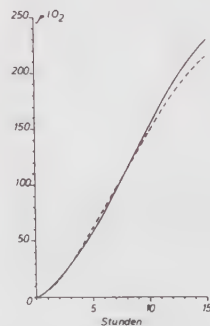


Abb. 27

Polyterephthalsäureester

Asp. fumigatus var. *ellipticus*, isoliert aus Müll

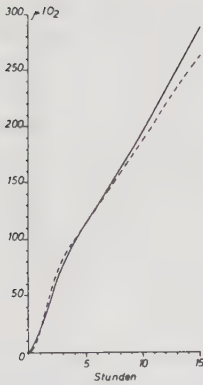


Abb. 28
Polypropylen
Streptococcus sp.
isoliert aus Müll

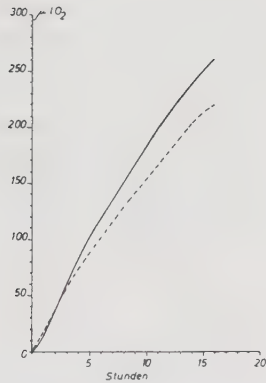


Abb. 29
Polyäthylen
Coryneformes Bacterium
(Stamm 4), isoliert aus Müll

In den Versuchen mit mesophilen Bakterien aus Müll waren Coryneforme Bakterien am häufigsten an der Zersetzung der Probesubstanzen beteiligt.

Die Coryneformen Bakterien verwerteten Kunststoffe sowohl in Rein- als auch in Mischkultur mit anderen Bakterien, jedoch scheint es, als ob die Reinkulturen Kunststoffe (Polyäthylen) stärker angreifen (Abb. 29 und 31).

Schon in der Literatur wird auf ihre kunststoffzersetzende Fähigkeit hingewiesen.

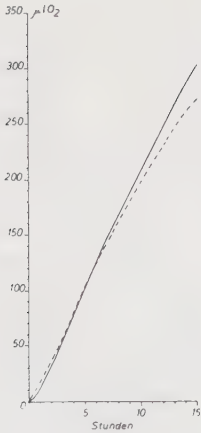


Abb. 30
Polyterephthalsäureester
Coryneformes Bacterium
(Stamm 3), isoliert aus
Müll

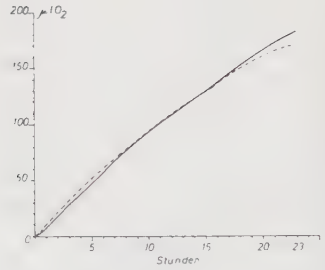


Abb. 31
Polyäthylen
Serratia marcescens und
Coryneformes Bacterium
(Stamm 1), isoliert aus Müll

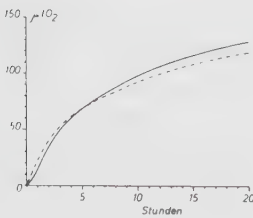


Abb. 32
Celluloseacetat
Coryneformes Bacterium
(Stamm 5), isoliert aus Müll

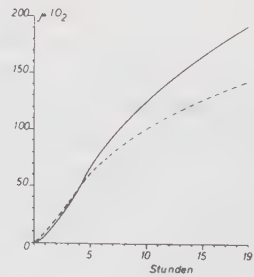


Abb. 33
Celluloseacetat
Coryneformes Bacterium
(Stamm 2) und Nitratreduzie-
rendes Bacterium (Stamm a),
isoliert aus Müll

Bei den gesamten Versuchen wurde nur eine einzige Streptomyces - Art isoliert, diese zeigte die größte Verwertung von PVC Grundsubstanz bei den gesamten Atmungsversuchen überhaupt. Im Gegensatz zu den Angaben in der Literatur, wo PVC ohne Zusatzstoffe allgemein für resistent gegenüber mikrobiellen Angriffen gehalten wird, begann diese Streptomyces - Art gleich zu Anfang des Versuches den Kunststoff anzugreifen, obwohl vermutlich noch Spuren von Glukose in der Nährlösung vorhanden waren (Abb. 34).

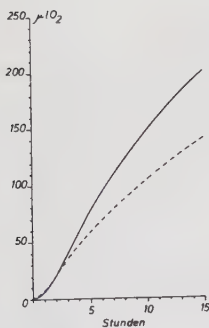


Abb. 34
PVC
Streptomyces sp.,
isoliert aus Müll

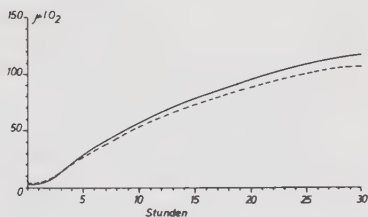


Abb. 35
Polypropylen
Mortierella acuminata,
isoliert aus Boden

Der Pilz Mortierella acuminata zeigt zwar nur eine geringe Verwertung des Polypropylens, jedoch beginnt die Zersetzung gleich zu Anfang des Versuches (Abb. 35).

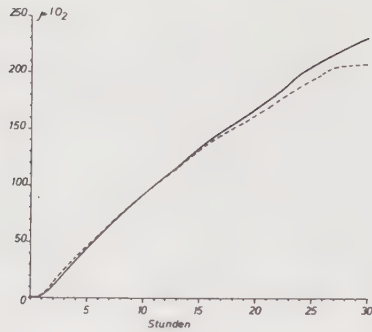


Abb. 36
Celluloseacetat
Mucor hiemalis, isoliert aus Boden

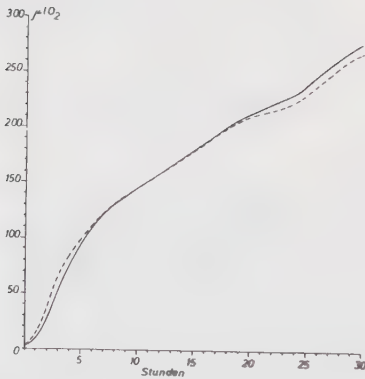


Abb. 37
PVC
Bacillus sp. (Stamm IV)
und Nitratreduzierendes
Bakterium (Stamm b),
isoliert aus Boden

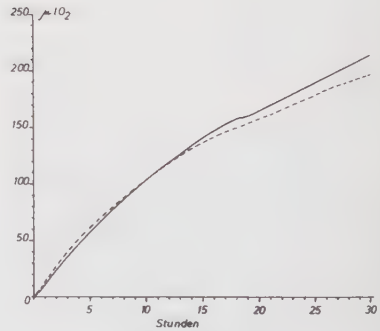


Abb. 38
Polyäthylen
Pseudomonas sp. (Stamm d)
und *Bacillus cereus* var. *my-*
coides, isoliert aus Boden

Auch durch eine *Bacillus* - Art und ein nitratreduzierendes Bacterium in Mischkultur wurde PVC verwertet. Die Verwertung war gering und setzte erst spät ein (Abb. 37).

Eine *Pseudomonas* - Art und *Bacillus cereus* var. *mycoides* in Mischkultur waren in der Lage, Polyäthylen anzugreifen (Abb. 38).

Pseudomonas - Arten und *Bacillus cereus* werden auch in der Literatur als Kunststoffersetzer bezeichnet.

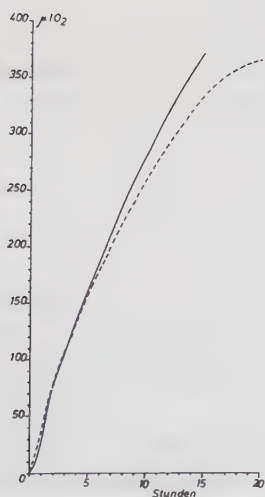


Abb. 39
Celluloseacetat
Pseudomonas sp. (Stamm c)
und *Bacillus* sp. (Stamm V),
isoliert aus Boden

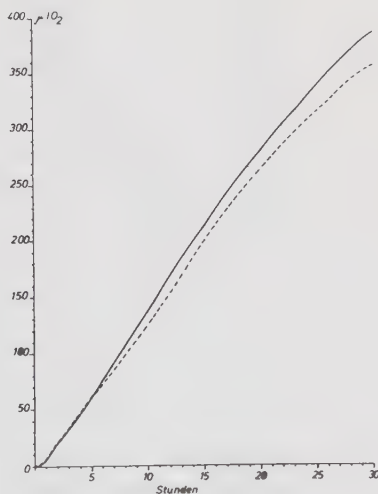


Abb. 40
Polyäthylen
Micrococcus, isoliert aus
Torf

Neben einem Coryneformen Bacterium und dem Pilz Asp. fumigatus var. ellipticus wies diese Micrococcus Art die stärkste Verwertung von Polyäthylen auf. Die Zersetzung stellte sich gleich zu Beginn des Versuches ein (Abb. 40).

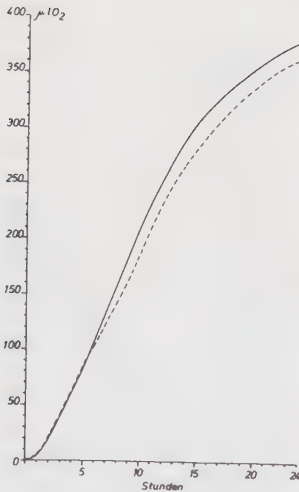


Abb. 41
Polyterephthalsäureester
Bacillus cereus var.
mycoides, isoliert aus Torf

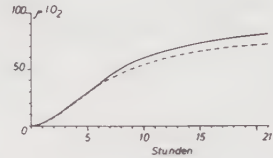


Abb. 42
Celluloseacetat
Penicillium janthinellum,
isoliert aus Torf

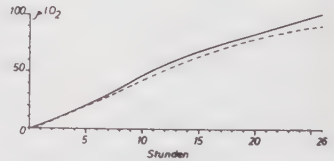


Abb. 43
Polyterephthalsäureester
Penicillium spinulosum und
Humicola grisea, isoliert
aus Torf

Polyterephthalsäureester wurde durch Bac. cereus var. mycoides, der als Reinkultur aus der Stammsammlung des Institutes übernommen wurde, nicht zersetzt, jedoch durch den Bac. cereus var. mycoides, der aus Torf isoliert worden war (Abb. 41).

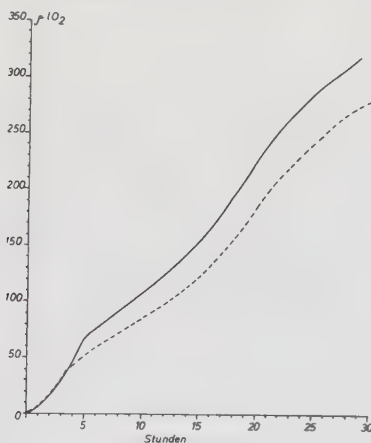


Abb. 44
Celluloseacetat
Bacillus sp. (Stamm VI),
isoliert aus Torf

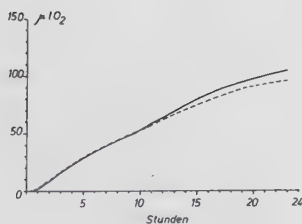


Abb. 45
PVC
Phialophora sp., isoliert
aus einem Plastikschauch

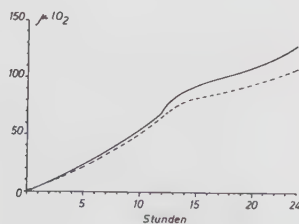


Abb. 46
Polypropylen
Phialophora sp., isoliert
aus einem Plastikschauch

Die Atmungskurve von Phialophora sp. bei der Verwertung von Polypropylen zeigte einen eigenartigen Verlauf, verglichen mit anderen Kurven. Die zu Anfang sich nur allmählich steigende Atmung von Phialophora sp. in den Gefäßen mit Polypropylen stieg nach der Mitte des Versuches sprunghaft an (Abb. 46).

Wie schon erwähnt, wurden im Anschluß an diese Versuche mit Mikroorganismen, die aus Müll, Boden und Torf isoliert worden waren, Versuche durchgeführt mit Mikroorganismen, die in der Literatur als kunststoffzersetzende geschildert wurden und aus der Stammsammlung des Institutes übernommen worden waren, und zwar: Paecilomyces varioti, Pseudomonas aeruginosa und Bacillus cereus var. mycoides.

Von diesen erwies sich Paecilomyces varioti als die aggressivste Mikroorganismenart.

Im Vergleich zu den meist selbstisolierten Mikroorganismen wiesen diese Stämme quantitativ (außer der Celluloseacetatgrundsatz) eine geringere Zersetzung der Kunststoffe auf.

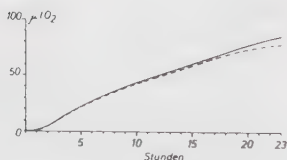


Abb. 47
Polyäthylen
Paecilomyces varioti

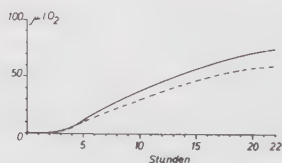


Abb. 48
Celluloseacetat
Paecilomyces varioti

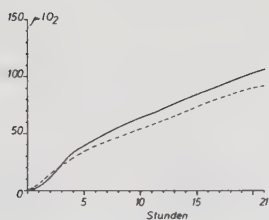


Abb. 49
Polyterephthalsäureester
Paecilomyces varioti

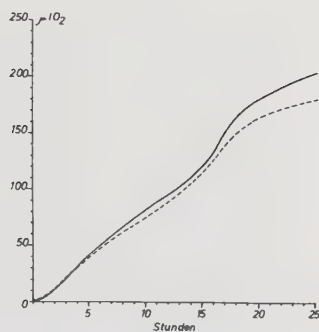


Abb. 50
Celluloseacetat
Pseudomonas aeruginosa

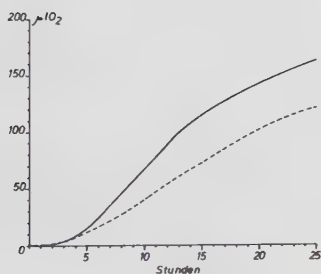


Abb. 51
Celluloseacetat
Bacillus cereus var.
mycoides

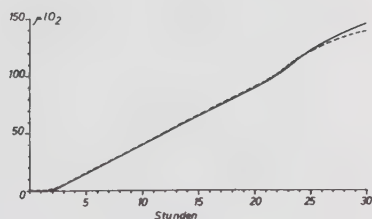


Abb. 52
Polyäthylen
Bacillus cereus var.
mycoides

IV. Diskussion

Das Problem der Kunststoffabfallbeseitigung und der ständig steigende Anteil des Kunststoffes in Müll und somit auch in Boden (als Müllkompost auf landwirtschaftlichen Flächen) haben unter anderem folgende Fragen aufgeworfen:

Kommt es im Rohmüll oder im Verlauf der Kompostierung zu einem mikrobiellen Abbau von Kunststoffen?

Werden die Grundsubstanzen dieser hochpolymeren Stoffe ohne Zusatzstoffe - z.B. Weichmacher, Stabilisatoren, Farbstoffe - von Mikroorganismen in Rein- oder Mischkultur enzymatisch gespalten und eventuell als C - Quelle verwertet?

Sind dazu nur wenige Mikroorganismen befähigt, wobei für jede Kunststoffart möglicherweise nur ein spezifischer Organismus in Frage kommt?

Wird es auf Grund dieser Überlegungen möglich sein, Kunststoffabfälle in Zukunft auf mikrobiellem Wege abzubauen - z.B. in einer Mülldeponie - auch wenn dieses Verfahren mit einem Mehraufwand an Kosten (Spezialzerkleinerungsmaschinen) und Zeit verbunden ist?

Zur Beantwortung dieser Fragen waren Untersuchungen notwendig, die sowohl an natürlichen Standorten, (Müll, Boden, Torf) als auch im Laboratorium durchgeführt wurden.

Die am Anfang der Arbeit durchgeführten Versuche in Petrischalen haben eine mikrobielle Veränderung der verwendeten Kunststoffplatten gezeigt, obwohl die Veränderungen oder Angriffe in den meisten Fällen nur auf der Oberfläche stattfanden. Diese Methode ist mit Schwierigkeiten verbunden, die auf der relativ schwierigen Beurteilung der mikrobiellen Vorgänge auf der zu prüfenden Substanz und der langen Versuchsdauer (120 - 150 Tage) beruhen, woraus folgende Störfaktoren verstärkt auftreten können: Konzentrationsänderung der Nährlösung, eventuell Veränderungen der Plastikmaterialien durch zu lange Berührung mit Nährböden und oberflächliche Oxidation der Substanzen.

Vergleicht man die Methode der Versuche in Petrischalen mit der respiratorischen Methode nach Warburg, die später angewen-

det wurde, dann kommt man zu dem Ergebnis, daß letztere bei der Erfassung der qualitativen und quantitativen Beurteilung der Verwertbarkeit der Kunststoffe durch Mikroorganismen der Methode der Versuche in Petrischalen sowohl zeitmäßig als auch methodisch weit überlegen ist (Schwartz 1963).

Wie später darauf hingewiesen wird, muß die Korrosion der Kunststoffe durch Mikroorganismen nicht immer gleichbedeutend mit ihrer Verwertung als Energiequelle sein, sondern kann z.B. durch saure Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen verursacht werden. Bei den Versuchen in Petrischalen ist es nahezu unmöglich, diese Faktoren bei der Beurteilung mikrobieller Angriffe zu trennen. Auch die Kombination mit Keimzahlbestimmung und anderen Prüfmethode(n) (z.B. Zugfestigkeitsbestimmung, optische Beurteilung) führen nicht immer zu genauen Ergebnissen.

Im Gegensatz zu der respiratorischen Methode nach Warburg bietet die Methode der Versuche in Petrischalen jedoch den Vorteil, daß sie in jedem mikrobiologischen Labor ohne großen Aufwand an Geräten durchführbar ist. Dabei ist die Auswahl geeigneter aggressiver Mikroorganismen, die Zusammensetzung der verwendeten Nährlösung, die Form und Größe der Versuchsgefäße (große Petrischalen) und die Größe der Oberfläche des zu prüfenden Materials von Bedeutung.

Die verwendete Minerallösung nach Bushnell und Haas (Schwartz 1963) mit einer guten Mineralsalzkombination ohne Kohlenstoff erwies sich als geeignet für die Versuche in Petrischalen. Die Zugabe der verschiedenen Glukosekonzentrationen zur Minerallösung (0,1, 0,25, 0,5 und 1% Glukose/Liter Minerallösung) war in soweit von Bedeutung als die meisten positiven Ergebnisse den Schalen mit Minerallösung + Glukose entstammten und nicht den Schalen ohne Glukose, und zwar wiederum aus den Versuchsschalen mit Minerallösung und niedrigen Glukosekonzentrationen. Die geringe Menge an Glukose als sogenannter "Starter" spielt bei den mikrobiellen Untersuchungen an sehr stabilen nicht natürlichen Substanzen wie Kunststoffen eine entscheidende Rolle, wenn man den langsamen Prozeß der Adaption der Mikroorganismen auf ein Minimum beschränken möchte.

Die Ergebnisse bei den Atmungsversuchen nach Warburg haben gezeigt, daß Glukosespuren den Mikroorganismen zu Beginn eines Versuches eine Anfangsaktivität gewährleisten und sie dadurch zum Angriff auf die Kunststoffe, die sie vorher nicht verwerten konnten, befähigt werden. Die Befunde von Thiele und Andersen (1953), in denen über den Abbau von stabilen bodeneigenen Humusstoffen erst in Gegenwart von leicht zersetzbaren, organischen Rückständen in Boden berichtet wird, lassen sich bis zu einem gewissen Grad als Vergleich heranziehen.

Die Menge der Glukose muß hier ein begrenzender Wachstumsfaktor sein und spätestens bis zur Mitte der Versuchszeit durch Mikroorganismen verwertet worden sein.

Die für die Versuche in Petrischalen verwendeten Rein- und Mischkulturen, darunter die in der Literatur als Kunststoffzersetzer beschriebenen Bac. cereus var. mycoides und Nigrospora sphaerica und die aus einem Plastikschauch isolierten Pilz- und Bakterienstämme als Mischkulturen, verursachten eine mehr oder weniger starke Veränderung des Materials. Die Skala der beobachteten Veränderungen reichte von starken, watteähnlichen Deformationen der Oberflächen (z.B. Sisdamidstreifen durch Bakterien) über mehr oder weniger starke Korrosionserscheinungen bis zu leichten Verfärbungen der Plastikstreifen. Unter den Pilzstämmen zeigten Phialophora sp. und Aspergillus flavus die größte Aggressivität, die Bakterienmischkulturen riefen dagegen in nur wenigen Fällen eine Veränderung der Kunststoffstreifen hervor. Die Angriffe haben sowohl in flüssigen als auch auf festen Nährböden stattgefunden. Die Einlage eines V - förmigen Glasbügels in die Schalen mit flüssigen Nährböden war notwendig, um die relativ schweren Kunststoffstreifen unmittelbar unterhalb der Flüssigkeitsoberfläche zu halten. Dadurch wurde eine Diffusion des Sauerstoffs an der Oberfläche der Streifen erreicht und den Mikroorganismenkolonien ein gutes Wachstum auf den Streifen ermöglicht. Von den beiden verwendeten Kunststoffplatten für die Versuche in Petrischalen zeigte die Sisdamidplatte häufiger als die PVC - Platte eine Veränderung. Bei den Schalen mit PVC - Streifen wurde insgesamt nur auf 5 Schalen eine geringe

Veränderung festgestellt. Die Veränderungen haben stets nur dort stattgefunden, wo die Oberfläche des Streifens Aufrauungen zeigte, wie z.B. an den Seitenkanten oder an der rauen dünnen Membran der blasenähnlichen Wölbungen der Oberfläche. Die aggressiven Stämme sind hier Bac. cereus var. mycoides und Nigrospora sphaerica gewesen. Die Sisdamidstreifen zeigten dagegen öfter eine oberflächliche Korrosion oder Verfärbung und Entfärbung. Hier waren an den Veränderungen ebenfalls Bac. cereus var. mycoides und Nigrospora sphaerica und seltener Phialophora sp. mit Aspergillus flavus in Mischkultur beteiligt. In manchen Fällen wurden auch unter dem Einfluß von selbstisolierten Bakterienmischkulturen Veränderungen am Kunststoff sichtbar.

Die unterschiedliche Häufigkeit der Angriffe auf beiden Kunststoffen ist, abgesehen von der unterschiedlichen Struktur und Zusammensetzung der beiden Substanzen, vermutlich noch stark von der Beschaffenheit ihrer Oberfläche abhängig. Die Sisdamidplatte mit weicher Oberfläche kann den Mikroorganismen leichter eine Haftfläche bieten. Die PVC - Hartplatte dagegen mit kompakter, harter, glatter Oberfläche erschwert das Anhaften und dadurch den Angriff der Mikroorganismen. Deshalb ist jede Aufrauung der Oberfläche bei derartig harten Substanzen für einen mikrobiellen Angriff von großer Bedeutung. Die Annahme, daß eine Zerkleinerung des Materials auf Grund der Oberflächenvergrößerung die Möglichkeit der Zersetzung fördert, hängt nicht nur von der vergrößerten Oberfläche ab, sondern auch vom Anbieten rauher Angriffsflächen, z.B. an den Seitenkanten der Bruchstücke.

Die Verfärbungen des Materials dürfen im allgemeinen nicht als eine Korrosion bezeichnet werden. Sie können durch Eindringen von mikrobiell gebildeten Farbstoffen auf Grund der Mikroporosität mancher Kunststoffe hervorgerufen sein, oder durch das Herauslösen von Farbstoffen und anderen Beimengungen durch Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen. Die Verfärbungen entstehen meist oberflächlich und können als primäre Angriffspunkte für eine sekundäre Zersetzung der Kunststoffe angesehen werden.

Ein besonderes Erscheinungsbild trat unter Einwirkung von Phialophora sp. auf einem Plastikschauch auf. Das Kunststoffmaterial wies im ganzen eine relativ starke, schwarze Verfärbung auf und bei mikroskopischer Untersuchung wurde ein starkes Wachstum von Phialophora sp. im Inneren des Materials beobachtet. Entlang der Pilzhypen wurde eine Ansammlung fettähnlicher Substanzen in mikroskopisch sichtbaren, aneinandergereihten, kugeligen Hohlräumen festgestellt. (Abb. 1 - 4) Griffiths (1971) fand in den Mycelien des Pilzes Verticillium dahliae nach Einwirkung auf Cellophanfolie fettähnliche Substanzen mit großem Lichtbrechungseffekt. Es ist bekannt, daß ein Teil der Pilze organische Säuren, z.B. Essigsäure, Zitronensäure, Oxalsäure in ihre Umgebung ausscheiden. Alle Pilze, die bei den Atmungsversuchen verwendet worden waren und positive Ergebnisse gezeigt hatten, sind in der Lage, aus Saccharose Säure zu bilden. Man kann vermuten, daß die von den Pilzen ausgeschiedenen Säuren oder ähnlichen Verbindungen zunächst auf den Kunststoff einwirken, die Molekülketten an einigen Stellen abbrechen bzw. auflösen und dadurch den Weg für den darauffolgenden enzymatischen Angriff freimachen. Die Ausscheidung saurer Stoffwechselprodukte könnte zusätzlich durch P_H - Verschiebung im Medium die Aktivität mancher Enzyme, die für den Abbau der polymeren Substanzen notwendig sind, steigern.

Solange noch keine biochemischen Untersuchungen - z.B. durch Verwendung markierter Substanzen - auf dem Sektor der enzymatischen Vorgänge bei der Verwertung von Kunststoff durch Mikroorganismen als Energiequelle durchgeführt worden sind, können nur Vermutungen geäußert werden.

Demmer (1968) vermutet, daß der enzymatische Abbau von Kunststoffen mit den von Fuhs (1961) untersuchten Vorgängen beim Paraffinabbau identisch sein kann:

- a) Dehydrogenierung zu Olefinkohlenwasserstoffen mit anschließender Wasseranlagerung; dabei entstehen primäre Alkohole, die zu Fettsäuren weiter oxidiert werden können.
- b) Anlagerung von freiem Sauerstoff unter Bildung eines Hydroperoxids, welches mit einem zweiten Molekül Kohlenwasser-

stoff in der Weise reagieren würde, daß ein primärer Alkohol entsteht. Der Alkohol könnte ebenfalls weiter zu Karbonsäure oxidiert werden.

Bei beiden Reaktionen würden also durch Oxidation am terminalen Kohlenstoffatom Fettsäuren gebildet, die dann einem β - Abbau unterliegen könnten. Als Endprodukt würde dabei Essigsäure bzw. Propionsäure entstehen.

Demmer nimmt weiterhin an, daß der enzymatische Angriff vom Ende der Molekülketten ausgeht, aber der Abbau der Kette begrenzt ist.

Die ausgegrabenen Folien - PVC, Polyäthylen, Polypropylen, Polyterephthalsäureester und Celluloseacetat -, die eine zeitlang dem mikrobiellen Einfluß von Müll, Boden und Torf ausgesetzt waren und der Isolierung von aggressiven Mikroorganismen für die Atmungsversuche nach Warburg dienen sollten, wiesen verschiedene Korrosionserscheinungen auf.

Die Folien im Müll zeigten im thermophilen Bereich bereits nach sechs Wochen eine starke Überwucherung mit Pilzhypen und Bakterienkolonien. Neben starken Verfärbungen, oberflächlichen Aufrauhungen und Sprödigkeit der Folien im thermophilen Bereich wurde das Korrosionsbild im mesophilen Bereich noch durch dünnergewordene Stellen an den Folien aus Müll und denen aus Boden und Torf ergänzt. Auf Grund der beobachteten Korrosionserscheinungen kann man annehmen, daß durch fachmännische Lagerung der Kunststoffe in Mülldeponien, in denen trotz guter Belüftung und optimaler Feuchtigkeit ein intensiver Abbauprozess über längere Zeit stattfindet, die Kunststoffe beseitigt werden können. Die Zersetzung kann durch vorherige Zerkleinerung der Kunststoffe erleichtert werden, würde aber immer noch eine lange Zeit von einigen Jahren in Anspruch nehmen.

Die Lage der einzelnen Probefolien im Müll war für die Selektion der kunststoffabbauenden Mikroorganismen von Bedeutung. Von den Folien, die an verschiedenen Stellen und in verschiedenen Stellungen in der Versuchsmiete gelagert worden waren, hatten mehrere als Wachstumsunterlage für Mikroorganismen

gedient, welche die Foliengrunds substanzen - wie die Versuchsergebnisse der Atmungsversuche zeigen - tatsächlich als Energiequelle verwerten konnten. Hier muß nochmals darauf hingewiesen werden, daß ein mehrmaliges gründliches Waschen der Folien nach dem Ausgraben aus Boden, Müll und Torf für die Isolierung der kunststoffabbauenden Mikroorganismen von größter Bedeutung ist.

Der einzige Pilz, der im thermophilen Bereich im Müll aus vier Folienarten isoliert wurde und bei respiratorischen Versuchen außer der Cellulosegrunds substanz bei allen anderen Kunststoffmaterialien eine Verwertung der Substanzen zeigte, war Thermomyces lanuginosus. Die drei thermophilen Bacillen, die sich auf allen vier Folienarten angesiedelt hatten (Polyterephthalsäureesterfolie war aus der Miete herausgerissen worden), waren, soweit es sich um Gramfärbung, Sporenlage, Zellform, Koloniefarbe, Kolonieform, maximale und optimale Wachstumstemperaturen handelte, identisch.

Die drei isolierten Stämme (aus Polyäthylenfolie) wurden auch auf die Zersetzung der Polyterephthalsäureestergrunds substanz hin bei den Atmungsversuchen mit positivem Ergebnis untersucht. Im mesophilen Bereich im Müll war der thermotolerante Pilz Aspergillus fumigatus var. ellipticus auf zwei Folienarten - Polyterephthalsäureester und Polyäthylen - vertreten. Dieser Pilz zeigte als Reinkultur in den Warburgversuchen auf Polyterephthalsäureester und Polyäthylen eine Zersetzung.

Eine Streptomyces-Art wurde aus Müll von PVC isoliert, die PVC - Grunds substanz zersetzen konnte. Dies war die einzige Streptomyces-Art, die bei den gesamten Versuchen isoliert wurde.

Die aus Müll isolierten aggressiven Bakterien waren einige Bacillen, Serratia marcescens, Streptococcus sp., Coryneformebakterien und ein nitratreduzierendes Bakterium, die ebenfalls fähig waren, die Kunststoffgrunds substanzen als C - Quelle zu verwerten.

Bei den Pilzen aus dem Boden handelte es sich um Mucor hiemalis von Celluloseacetat und Mortierella acuminata von Polypropylen.

Die Bakterien waren Pseudomonasarten, Bac. cereus var. mycoides, sporenbildende Bakterien und ein nitratreduzierendes Bakterium.

Aus dem Torf zeigten bei den Atmungsversuchen Penicillium spinulosum und Humicola grisea in Mischkulturen auf Polyterephthalsäureester und Penicillium janthinellum auf Celluloseacetat eine Zersetzung, Die aggressiven Bakterien waren Bac. cereus var. mycoides, Bacillus sp. und ein Micrococcusstamm. Für die Atmungsversuche wurden zum Vergleich noch einige Reinkulturen aus der Stammsammlung des Instituts ausgewählt, die in der Literatur als Kunststoffzersetzer angegeben werden. Positive Ergebnisse zeigten Bac. cereus var. mycoides auf Celluloseacetat und Polyäthylen, Pseudomonas aeruginosa auf Celluloseacetat und Paecilomyces varioti auf Celluloseacetat, Polyäthylen und Polyterephthalsäureester. Phialophora sp. wurde auch hier untersucht. Es wurde festgestellt, daß dieser Pilz Polypropylen und PVC - Grundsubstanzen verwerten kann. Von den Versuchsbedingungen für die Atmungsversuche, durch die befriedigende Ergebnisse geliefert wurden, haben sich mehrere Faktoren als besonders wichtig erwiesen.

Die verwendete Minerallösung nach Demmer (1968) mit einer sehr guten Zusammensetzung von Mineralsalzen und Spurenelementen ohne eine C - Quelle hat sich hier bewährt. Der Zusatz von 50 mg Glukose zu einem Liter Minerallösung zur Aktivierung der Mikroorganismen zu Beginn des Versuches, erwies sich als die richtige Konzentration. Die Glukosemenge war insofern ideal, als bei Keimzahlen von 10^7 bis 10^9 /ml im Impfmateriail die Glukose bereits in den ersten 5 bis 10 Stunden völlig verwertet worden war. Hinzu kam, daß nach dem Verbrauch der Glukose, der automatische Schreiber noch genügend Raum zur Aufzeichnung weiterer Atmung durch Verwertung von Probenmaterial frei hatte. (Die gesamte Schreibweite der Schreibfedern beträgt 300 mm)

Der Gebrauch eines elektrischen Mixers zur Zerkleinerung der gutgewachsenen Pilzmycelien hatte ermöglicht, eine gut homogenisierte Pilzsuspension herzustellen, die wiederum ein gleichmäßiges Pipettieren der Impfsuspension in die Versuchs-

flasche ermöglichte. Die Homogenisierung der Bakterien war einfacher und geschah unter gelegentlichem Schütteln oder Rühren mit einem elektrischen Rührer unter sterilen Bedingungen.

Das dreimalige Zentrifugieren und Waschen von Pilzen (vor der Zerkleinerung der Mycelien) und Bakterien hatte insofern eine Bedeutung, da dadurch die Zufuhr jedes Nährstoffes zu der Nährlösung vermieden wurde. Jede Versuchsflasche enthielt 3 ml homogenisiertes Impfmateriel.

Als Probematerial wurden 50 mg pulverisierte Kunststoffsubstanz pro Versuchsgefäß als ausreichend große Angriffsfläche für die Mikroorganismen - im Verhältnis zu ihrer Keimzahl - betrachtet. Die Zugabe von 0,25 ml einer 1 n KOH - Lösung pro Versuchsflasche ist hier ausreichend. Eine stärkere Konzentration von KOH würde während der langen Versuchszeit (15 - 30 Stunden) durch ihre hygroskopischen Eigenschaften den Wassergehalt der Nährlösung beeinflussen. Ein leichtes Schütteln der Versuchsflaschen - Schüttelamplitude 30 bis 35, Schüttelfrequenz 40 mm - hat die Diffusion von Gasen erleichtert, aber das Anhaften der Mikroorganismen an dem Probematerial nicht beeinflußt.

Bis jetzt sind nur wenige Arbeiten über die Verwendung des Warburg-Gerätes bei Atmungsmessungen bei höheren Temperaturen bekannt. Die Versuche mit thermophilen Mikroorganismen haben gezeigt, daß es möglich ist, auch die thermophilen Mikroorganismen auf ihre Fähigkeit hin zu prüfen, Kunststoffe zu verwerten. Die Badtemperaturen, die sich bei den durchgeführten Untersuchungen als optimal erwiesen, betrugen für mesophile Stämme 30°C und für thermophile 48°C.

Wie schon erwähnt, wurde die Aufzeichnung des Atmungsverlaufs in den Versuchsgefäßen - zwei Kontrollgefäße ohne Kunststoff und vier Gefäße mit Kunststoff - von einem automatischen Schreiber übernommen. Die von dem Schreiber registrierten Werte wurden je Stunde mit der Gefäßkonstante (nach Webley (1947)) multipliziert und der gesamte Atmungsverlauf grafisch dargestellt.

Die Kurven der Kontrollgefäße und die der Gefäße mit Kunststoff

zeigten ein unterschiedliches Bild, sowohl in ihrem Anfangs- als auch in ihrem gesamten Verlauf. Bei vielen Versuchen liefen die beiden Kurven nicht parallel, vielmehr zeigten die Gefäße mit Probesubstanz im Vergleich zu den Kontrollgefäßen eine Verzögerung der Atmungshöhe über einige Stunden. Die beiden Kurven glichen sich schließlich aus und bei den positiven Versuchen zeigten die kunststoffenthaltenden Gefäße eine stärkere Atmung als die der Kontrolle. Bei einer großen Zahl von Versuchen verliefen die Kurven anfangs gleich, bis sich dann eine allmähliche oder plötzliche Steigerung der Atmungsintensität abzeichnete. Der unterschiedliche Verlauf der beiden Kurven zu Beginn des Versuches - trotz konstanter Keimzahl und Gleichheit der sonstigen Versuchsbedingungen bei allen Gefäßen - kann eventuell zurückzuführen sein auf eine geringe hemmende Wirkung der Kunststoffe auf Mikroorganismen zu Anfang des Versuches.

Als Grund für die allmähliche Steigerung der Atmung in den Gefäßen mit Kunststoffen kann man annehmen, daß mit Abnahme der Glukosekonzentration die notwendige Enzymproduktion zum Abbau der Probesubstanzen, deren Zunahme umgekehrt proportional zu der Glukosekonzentration ist, einsetzt, z.B. bei der Verwertung von Polyäthylen und Polypropylen durch Bakterien aus Müll. Im Gegensatz dazu wurde in manchen Fällen eine plötzliche Zunahme der Atmung in den Gefäßen mit Kunststoffen beobachtet, die eine zweiphasige Atmungskurve zustande kommen ließen, z.B. bei der Verwertung von Polypropylen und Polyterephtalsäureester durch Thermomyces lanuginosus. Bei dieser Form von Atmung handelt es sich vermutlich um eine zweiphasige Enzymproduktion; nach der Enzymbildung zur Verwertung von Glukose und deren Verbrauch setzt eine zweite Enzymsynthese zur Verwertung von Kunststoffen ein. Die erste Phase unterdrückt solange die für die zweite Phase notwendigen Enzyme, bis die Glukose vollständig verbraucht ist.

Ähnlich berichtet Schlegel (1969) über das zweiphasige Wachstum von *E. Coli* in einer Nährlösung, die gleichzeitig Glukose und Sorbit enthält.

Eine dritte Form ist die allmähliche Steigerung der Atmung in

den Gefäßen mit Kunststoff zu Beginn des Versuches, die durch eine plötzliche Zunahme der Atmungsintensität fortgesetzt wird, z.B. bei der Verwertung von Polypropylen durch Phialophora sp.. Der Grund dafür ist vermutlich darin zu suchen, daß erst die notwendigen Enzyme für den Glukoseabbau produziert werden. Mit der Abnahme der Glukose werden auch die Enzyme für den Kunststoffabbau gebildet, die wiederum am Anfang gering vorhanden sind oder ein wenig unterdrückt werden. Erst nach vollständigem Glukoseabbau wird die Enzymsynthese für den Kunststoffabbau plötzlich vollständig.

Das mittlere Molekulargewicht der polymeren Substanzen soll mit der Zersetzbarkeit dieser Stoffe in enger Beziehung stehen. Man nimmt an, daß Kunststoffe mit niedrigem mittleren Molekulargewicht leichter zersetzt werden und diejenigen mit hohem mittleren Molekulargewicht dagegen völlig resistent sind (Schwartz (1963), Jen Hao et al. (1961/62), Haldenwanger (1970)).

Dieser Zusammenhang kann hier nicht bestätigt werden, da alle hier verwendeten Kunststoffe von hohem mittleren Molekulargewicht waren. Es ist damit nicht ausgeschlossen, daß bei der gleichen Substanz wie z.B. Polyäthylen jenes mit niedrigstem mittleren Molekulargewicht am leichtesten abgebaut wird. Aber ein hohes mittleres Molekulargewicht schließt einen mikrobiellen Angriff nicht aus.

Es wird immer behauptet, daß die Beseitigung der Kunststoffe im Müll, die Cellulose als Grundsubstanz enthalten, kein Problem darstellt (Scott 1970). Hier wurde festgestellt, daß nach Ausgraben der Folien aus Müll, Boden und Torf die Celluloseacetatfolie sich nicht viel anders verhalten hat als z.B. Polyäthylen- oder Polypropylenfolien, obwohl Celluloseacetat in Atmungsversuchen relativ häufiger dem mikrobiellen Abbau unterworfen war.

PVC - Hart wird in der Literatur ausnahmslos als resistent gegenüber Mikroorganismen bezeichnet. Die mikrobiellen Angriffe, die auf PVC - Weich mit verschiedenen Weichmachern stattfinden, werden stets auf die Zersetzung der Weichmacher zurückgeführt. Bei den durchgeführten Atmungsversuchen mit PVC -

Grundsubstanz wurde gezeigt, daß Mikroorganismen doch in der Lage sind, PVC ohne Weichmacher oder irgend eine andere Beimengung zu verwerten.

V. Zusammenfassung

Die ständig wachsende Produktion und der Verbrauch von Kunststoffen, insbesondere der von Verpackungsmaterialien, stellt für die heute üblichen Abfallbeseitigungsmethoden, wie Deponie und Verbrennung, ein großes Problem dar.

In bezug auf dieses Problem wurde in dieser Arbeit die mikrobielle Zersetzbarkeit der Kunststoffe untersucht.

Für diese Untersuchungen wurden zwei Methoden gewählt:

A. Versuche in Petrischalen

B. Atmungsversuche nach Warburg

Für die Versuche in Petrischalen wurden flüssige und feste Nährmedien mit und ohne Glukose verwendet. Die Glukosekonzentrationen betrugen 0,1%, 0,25%, 0,5%, und 1%. Die zu untersuchenden Kunststoffmaterialien waren eine PVC - Hart Platte und eine Sisdamidplatte. Als Versuchsorganismen wurden Bac. cereus var. mycoides und Nigrospora sphaerica als Reinkultur (aus der Stammsammlung des Instituts) und selbstisolierte Pilz- und Bakterienmischkulturen (isoliert aus einem Plastikschlauch) verwendet. Die selbstisolierten Pilze waren Phialophora sp., Asp. flavus, Penicillium sp. und Asp. niger. Die Bakterien waren hauptsächlich grampositiv. Kurzstäbchen waren nur zu 10% vertreten.

Auf der Sisdamidplatte zeigten Bac. cereus var. mycoides und Nigrospora sphaerica in Reinkulturen, Phialophora sp. und Asp. flavus in Mischkultur eine Verfärbung und Veränderung auf der Oberfläche des Materials. Auf PVC zeigten Bac. cereus var. mycoides und Nigrospora sphaerica in nur verhältnismäßig wenigen Fällen eine Verfärbung oder Veränderung. Die Phialophora sp. und Asp. flavus zeigten auf keiner PVC - Platte eine Veränderung. Eine watteähnliche, etwas in die Tiefe gehende Veränderung durch die Bakterienmischkulturen zeigten nur die Sisdamid- jedoch nicht die PVC - Platten. Die Veränderungen an den Kunststoffplatten zeigten sich meistens in Nährböden mit geringen Glukosekonzentrationen (0,1 - 0,5%).

Für die Atmungsversuche wurden 5 verschiedene Folienarten mit den 5 zu den Folien gehörenden Grundsubstanzen ohne jegliche

Beimengung herangezogen. Die Folien dienten ausschließlich der Isolierung von Mikroorganismen aus Müll, Boden und Torf. Die aus den Folien isolierten Mikroorganismen wurden in der gleichen Zusammensetzung, in der sie aus den einzelnen Folien isoliert worden waren, in Rein- und Mischkulturen für die Versuche mit dem Warburg - Gerät auf die Foliengrunds substanzen gebracht und durch Atmungsmessungen auf ihre Zersetzbarkeit hin geprüft.

Für die Atmungsversuche wurde die Minerallösung nach Demmer (1968) mit 50 mg Glukose pro Liter Minerallösung verwendet. Die Glukose sollte den Mikroorganismen eine Anfangsaktivität gewährleisten. Die Versuchszeit betrug 15 bis 30 Stunden. Die Pilze und Bakterien hatten eine Zersetzung der Grunds substanzen gezeigt auf:

- Polyäthylen: Reinkulturen von Thermomyces lanuginosus, Asp. fumigatus var. ellipticus, Coryneform es Bacterium, Micrococcus sp. und Mischkulturen von 3 thermophile Bacillen, Serratia marcescens und Coryneformes Bacterium, Pseudomonas sp. und Bac. cereus var. mycoides.
- PVC: Reinkulturen von Thermomyces lanuginosus, Streptomyces sp. und Mischkulturen von 3 thermophile Bacillen, Bacillus sp. und Nitratreduzierendes Bacterium.
- Celluloseacetat: Reinkulturen von Mucor hiemalis, Pen. janthinellum, Coryneformes Bacterium und Mischkulturen von 3 thermophile Bacillen, Coryneformes Bacterium und Nitratreduzierendes Bacterium, Pseudomonas sp. und Bacillus sp..
- Polypropylen: Reinkulturen von Thermomyces lanuginosus, Mortierella acuminata, Streptococcus sp. und Mischkultur von 3 thermophile Bacillen.

Polyterephthalsäureester: Reinkulturen von Thermomyces lanuginosus, Asp. fumigatus var. ellipticus, Coryneformes Bacterium, Bac. cereus var. mycoides und Mischkulturen von Pen. spinulosum und Humicola grisea, 3 thermophile Bacillen.

Zusätzlich zeigten PVC und Polypropylen eine Zersetzung durch Phialophora sp. (isoliert aus einem Plastikschlauch). Weiterhin zeigten Paecilomyces varioti auf Polyäthylen, Celluloseacetat und Polyterephthalsäureester, Pseudomonas aeruginosa auf Celluloseacetat, und Bac. cereus var. mycoides auf Celluloseacetat und Polyäthylen eine Zersetzung.

Diese Stämme wurden in Reinkultur aus der Stammsammlung des Instituts übernommen.

Es kann vermutet werden, daß zwischen der Eigenschaft der Säurebildung der in dieser Arbeit verwendeten Pilze mit ihrer Fähigkeit, Kunststoffe abzubauen, ein Zusammenhang besteht. Von Bedeutung ist das Vorhandensein von geringen Mengen einer leicht verwertbaren organischen Substanz in der Nährlösung. Es wurde festgestellt, daß alle Kunststoffgrundsubstanzen mit hohem mittleren Molekulargewicht, die in dieser Arbeit verwendet wurden, durch die Mikroorganismen verwertet werden können.

VI. Literaturverzeichnis

- André, Th.: Die Kunststoff - Einweg - Flasche und praktikable Wege ihrer geordneten Beseitigung. Städtehygiene 2, 34 - 39 (1969)
- Arbeitsgemeinschaft für Abfallbeseitigung: Kunststoff im Müll Umwelt 1971 (3), 42 - 45
- Badley, S.R.: A view from the plastics industry. Conf. plastic waste and environment. London, Febr. 1971
- Beck, Th.: Mikrobiologie des Bodens München, Basel, Wien 1968
- Bericht des Batelle Institutes (Herausgegeben vom Bundesministerium des Inneren): Kunststoffabfälle als Sonderproblem der Abfallbeseitigung. Beih., Müll u. Abfall. 2 Beiheft 4 (1970)
- Berk, S.H. Ebert & L. Teitell: Utilization of plasticisers and related organic compounds by Fungi. Ind. Eng. Chem. 49, 1115 - 1124 (1957)
- Booth, G.H., A.W. Cooper & J.A. Robb: Bacterial degradation of plasticized PVC. J. Appl. Bact. 31, 305 - 310 (1968)
- Breed, R.S., E.G.D. Murray & N.R. Smith: Bergey's manual determinative bacteriology. 7. Edition, Baltimore 1957
- Burgess, R. & A.E. Darby: Two tests for the assessment of microbiological activity on plastics. Brit. Plastics 37, 32 - 38 (1964)

- Darby, R.T. & A.M. Kaplan: Fungal susceptibility of Polyurethanes.
Appl. Microbiol. 16, 900 - 905 (1968)
- Demmer, F.: Beiträge zur Frage der Pilzresistenz voll-synthetischer Kunststoffe.
Mat. u. Organismen, 3, 19 - 57 (1968)
- Drobnik, J.: The use of respirometry in the microbiology of soil. I. A method of macrorespirometry.
Ceskosl. Microbiol. 2, 116 - 123 (1957)
- Drobnik, J.: An apparatus for studying respiration in soil samples.
Fol. Microbiol. 4, 188 - 192 (1958)
- Drobnik, J.: Primary oxydation of organic matter in the soil. I. The form of respiration curves with glucose as the substrate.
Plant a. Soil 12, 199 - 211 (1960a)
- Drobnik, J.: Primary oxydation of organic matter in the soil. II. Influence of various kinds of preincubations.
Plant a. Soil 12, 212 - 222 (1960b)
- Edmonds, P. & J.J. Cooney: Microbial growth in a Fuel-Water System containing Polyesterurethane Foam.
Appl. Microbiol. 16, 426 - 427 (1968)
- Eichler, H.H.: Gefahr aus dem Müll. Kunststoff-Flaschen bereiten Sorgen - droht Säurepest.
Müll, Abfall, Abwasser, 8, 16 (1970)
- Evans, D.M. & I. Levisohn: Biodeterioration of Polyester - Based Polyurethane.
Int. Bull. 4, 89 - 92 (1968)

- Fendley, J.A.: The plastics litter problem and microbiological research.
Conf. plastic waste and environment. London
Febr. 1971
- Fuhs, G.W.: Der mikrobielle Abbau von Kohlenwasserstoffen. Arch. Mikrobiol. 39, 374 - 422 (1961)
Zit, nach Demmer (1968)
- Griffiths, D.A.: The fine structure of *Verticillium dahliae* Kleb. colonizing cellophane.
Canad. J. Microbiol. 17, 79 - 81 (1971)
- Haldenwanger, H.H.M.: Biologische Zerstörung der Makromolekularen Werkstoffe. Berlin, Heidelberg, New York 1970
- Hedrick, H.G., M.T. Garoll, H.P. Powen & W.J. Pritchard:
Variability of selected Microorganisms in Hydrocarbon Fuels.
Appl. Microbiol. 11, 472 - 475 (1963)
- Hedrick, H.G. & M.G. Crum: Effects of Jet - Fuel Microbial isolates on a Polyurethane Foam.
Appl. Microbiol. 16, 1826 - 1830 (1968)
- Higginson, A.E.: The view of a local authority.
Conf. plastic waste and environment. London
Febr. 1971
- Jen - Hao, Lün & Adelheid Schwartz: Verhalten von Mikroorganismen gegenüber einigen Plasten in Abhängigkeit vom mittleren Molekulargewicht.
Z. Allg. Mikrobiol. 1, 176 - 177 (1961/62)
- Katz, St.E. & A. Fassbender: Biodegradability of Ureaformaldehydes and related compounds.
Agric. Food Chem. 14, 336 - 339 (1966)

- Katzenstein, P.: Kann die Kunststoffflasche die Glasflasche in der Getränkeindustrie ersetzen?
Städtehygiene 22, (2) 36 - 37 (1971)
- Kaupert, E.: Müll und Abfall Bd. 2 Berlin 1965
- Kelker, H., F. Klages & R. Schwarz: Chemie
Das Fischer Lexikon, Frankfurt/M. 1961
- Klausmeier, R.E.: The effect of extaneous nutrients on the biodeterioration of plastics.
Monogr. Soc. Chem. Ind. 23, 232 - 243 (1966)
- Krannich, K.: Die Verwendung von Zellophanfolie zur Prüfung der Vermehrungsfähigkeit von Bakterien unter Bodeneinfluß.
Ztrlbl. Bakt. II 122, 177 - 180 (1968)
- Kühlwein, H. & F. Demmer: Mikrobielle Korrosion von Kunststoffen.
Alterung und Korrosion von Kunststoffen.
Hrsg. H.A. Stuart Weinheim 1967, 1 - 6
- Lefaux, R.: Chemie und Toxikologie der Kunststoffe.
Mainz 1966
- Meyn, A.: Bestimmungsschlüssel für die Gattungszugehörigkeit von Bakterien.
Stuttgart 1952
- Niese, G.: Die Bestimmung der mikrobiellen Aktivität im Müll und Müllkomposten durch die Messung der Sauerstoffaufnahme und der Wärmebildung.
Habilitationsschrift Gießen 1969

- Onasch, H.: Ist die Umstellung auf Einwegflaschen aus Kunststoff verantwortbar? Beurteilung aus der Sicht einer Stadt - Reinigung. Städtehygiene 10, 228 (1968)
- Onasch, H.: PVC - Müll
Müll, Abfall, Abwasser 15, 39 - 40 (1971)
- Reimer, H. & T. Rossi: Zur Emission von Chlorwasserstoff bei der Verbrennung von Hausmüll.
Müll und Abfall 2, 71 - 74 (1970)
- Ritzerfeld, W.: Die manometrische Atemmessung in der medizinischen Mikrobiologie.
Erg. Mikrobiol., Immun. Forsch. Exp. Ther. 37, 1 - 58 (1963)
- Rothenhäusler, P.: Wie Japan mit seinem Müll fertig wird.
Städtehygiene 22, (4) 1971
- Scharfenstein, O.H.C.: PVC - Müllverbrennungen - Stadt - Reinigungsämter gaben Auskunft.
Städtehygiene 8, 192 - 196 (1969)
- Schlegel, H.G.: Allgemeine Mikrobiologie
Stuttgart 1969
- Schmitz, E. & E. Wogrolly: Kunststoffe und Umwelt.
Umweltschutz (Städtereinigung) 8 (2)
46 - 48 (1971)
- Schönborn, H.H.: Probleme der Abfallbeseitigung unter besonderer Berücksichtigung der Kunststoffe.
Deutscher Rat für Landespflege Heft 13
16 - 20 (Juli 1970)
- Schulz, G.: Die Kunststoffe. München 1964

- Schwartz, Adelheid: Mikrobielle Korrosion von Kunststoffen und ihren Bestandteilen. Berlin 1963
- Schwartz, Arnold & W. Schwartz: Über die Verwendung von Kunststofflack zu Schutzanstrichen von Filterbecken in Wasserwerken.
Ztrbl. Bakt. II, 115, 545 - 553 (1962)
- Scott, G.: Photo - degradation of plastics.
Conf. plastic waste and environment. London Febr. 1971
- Scott, G.: Photo - destruction of plastics.
Plastics, Rubbers, Textiles. 361 - 362
Sept. 1970
- Staudinger, J.J.P.: Kunststoffe, ein wichtiger Bestandteil des Abfalls.
ISWA - Gründungstagung Essen 17.10.1970
- Stoekhert, K.: Kunststoff Lexikon, München 1967
- Taylor, G.F.: Survival of Gram-Negative Bacteria on plastic compounded with Hexachlorophene.
Appl. Microbiol. 19, 131 - 133 (1970)
- Teller, W. & H. Bohne: Chlorwasserstoff in Rauchgasen von Müllverbrennungsanlagen.
Müll, Abfall, Abwasser 10, 28 - 29 (1970)
- Tetra Pak Ltd., Lund: Schnell zerfallender Kunststoff.
Dtsch. Milchw. 21, 2013 (1970)
- Thiele, H. & G. Andersen: Über die mikrobielle Verwertbarkeit von Graphitsäure, Huminsäure und Mellihsäure. Ztrbl. Bakt. II 107, 247 - 250 (1953). Zit. n. Beck, Mikrobiologie des Bodens, München 1968

- Toepfer, C.Th., W. Nowak & E. Kanz: Über die Eignung der Acridinorange-Fluorochromierung zur Ermittlung des Bewuchses von Plastikfolien im Rahmen von Untersuchungen über die mikrobielle Korrosion von Kunststoffen.
Ztbl. Bakt. II 125, 303 - 306 (1970)
- Umbreit, W.W., R.H. Burris & J.F. Stauffer: Manometric techniques.
4. Edition, Minneapolis 1964
- Verband Kunststoffherstellende Industrie e.V. (VKE): Kunststoffe in der Abfallbeseitigung.
Frankfurt/M. 1971
- Waeser, B.: Kunststoffe als Schutz gegen Korrosion.
Heidelberg 1963
- Webley, D.M.: A technique for the study of oxygen availability to microorganisms in soil and its possible use as an index of soil aeration.
J. Agric. Sci. 37, 249 - 256 (1947)
- Wendt, T.M., A.M. Kaplan & M. Greenberger: Weight loss as a method for estimating the microbial deterioration of PVC Film in soil burial.
Int. Biodet. Bull. 6, 139 - 143 (1970)
- Wiken, T., H.G. Keller, C.L. Schelling & A. Stöckli: Über die Verwendung von Myzelsuspensionen als Impfmateriale in Wachstumsversuchen mit Pilzen.
Experientia 7, 237 - 239 (1951)
- Wogrolly, E.: Die Rolle der Kunststoffe im Müll.
Umweltschutz 8, 16 - 20 (1971)

Danksagen

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. E. Küster für die Überlassung des Themas und für die wissenschaftliche Anleitung sowie für das stete Interesse am Fortgang meiner Arbeit.

Weiterhin möchte ich an dieser Stelle Herrn Professor Dr. G. Niese, Frau Dr. A. von Klopotek und Herrn Dr. G. Farkasdi danken, deren Hilfe die Durchführung der Arbeit erleichterte.

Ferner danke ich Herrn Professor Horn und Herrn Dr. Fischer von den Farbwerken Höchst, die die Versuchssubstanzen für diese Arbeit zur Verfügung gestellt haben. Ich danke Herrn Oberbaurat O. Horstmann, Leiter des städtischen Fuhrparks und Herrn Ing. Becker, Leiter der Kompostanlage der Stadt Heidelberg für die Bereitstellung der Müllmiete.

Ich danke sehr herzlich allen Institutsangehörigen, insbesondere Fr. E. Vogt.

Lebenslauf

- 24.7.1944: geboren als Sohn des Beamten Nasrollah Azadi - Bakhsh und seiner Ehefrau Mahbube in Teheran
- 1951 - 1957: Besuch der Volksschule Alame in Teheran
- 1957 - 1963: Besuch der Oberschule Dr. Nasirie in Teheran
- Sommer 1965: Landwirtschaftliches Praktikum in Bordesholm, Krs. Kiel
- 1965 - 1966: Besuch des Studienkollegs in Darmstadt
- 1966 - 1970: Studium der Landwirtschaft an der Justus Liebig - Universität in Gießen
- 1970 - 1972: Anfertigung der vorliegenden Arbeit an dem Institut für Landwirtschaftliche Mikrobiologie.

FOTO-DRUCK LENZ · 63 Gießen · Riegelpfad 32/Ecke Ludwigstraße
Telefon 0641 - 77449